

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**



**VALORACIÓN NO INVASIVA DEL RIESGO
CARDIOVASCULAR EN LA INFECCIÓN POR VIH**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Sergio Serrano Villar

Bajo la dirección de los doctores
Arturo Fernández Cruz,
Vicente Estrada Pérez

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-695-0770-4

©Sergio Serrano Villar, 2011

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**VALORACIÓN NO INVASIVA DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN
LA INFECCIÓN POR VIH**

TESIS DOCTORAL

SERGIO SERRANO VILLAR

Madrid, 2011

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

**VALORACIÓN NO INVASIVA DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN
LA INFECCIÓN POR VIH**

**NON-INVASIVE ASSESSMENT OF CARDIOVASCULAR RISK IN HIV
INFECTION**

MEMORIA PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE DOCTOR EUROPEO

Sergio Serrano Villar

Madrid, 2011

DIRECTORES DE TESIS:

Arturo Fernández-Cruz

Vicente Estrada Pérez

A Talía
A Emma

“No importa con qué lentitud avances, siempre y cuando no te detengas”.

KungFuTsé, Confucio

“Todo el mundo visible no es más que un trazo imperceptible en el amplio seno de la naturaleza. Es una esfera infinita cuyo centro está en todas partes, la circunferencia en ninguna”.

Blaise Pascal

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, debo mencionar aquí a todos mis compañeros del servicio de Medicina Interna con quienes he compartido estos últimos cinco años, especialmente a Tomás Santillana y a Baltasar Orejas, de quienes admiro su maestría en el arte de saber hacer medicina y su vocación docente; han influido enormemente en mi práctica clínica

A Arturo Fernández-Cruz, por su apoyo y ejemplar vocación investigadora que me han hecho sentir este trabajo respaldado con calidad.

A Manuel Fuentes, por su paciencia, profesionalidad, eficiencia y todas las horas compartidas para sacar adelante este trabajo. A María, Arantxa, Maririna, Mario y a toda la unidad de HDEI, sin su ayuda no se podría haber llevado a cabo este proyecto.

A Vicente Estrada, por su gran calidad humana y científica, generosidad, entusiasmo y dedicación a los pacientes con VIH; por su ejemplo y ayuda, y por haber sabido orientarme y animarme en el campo de la investigación desde mi época de estudiante.

A todos los pacientes con VIH, verdaderos protagonistas e inspiradores de este trabajo.

A mis familiares y amigos, por su comprensión, aliento y respaldo, en especial a mi abuelo José Luis. A Marga, por el apoyo logístico incondicional. A Bego, por el soporte artístico. A mis hermanos y padres, con especial cariño, a quienes en última instancia debo el camino recorrido hasta el momento.

Finalmente, a Talía, mi compañera de viaje, por su paciencia, por las horas robadas, por estar a mi lado. Y a la pequeña Emma, que pese a sus escasos meses, entre gorjeos y sonrisas reparte felicidad a cuantos la rodeamos.

ÍNDICE

INDICE

Agradecimientos

Índice de abreviaturas

I. INTRODUCCIÓN	3
Generalidades.....	3
1. Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y enfermedad cardiovascular...	4
1.1. Fisiopatología de la aterosclerosis en la infección por VIH.....	8
1.1.1. Daño viral directo.....	8
1.1.2. Disfunción endotelial.....	20
1.1.3. Inflamación crónica.....	21
1.1.4. Estrés oxidativo.....	23
1.2 Efecto del tratamiento antirretroviral sobre el riesgo cardiovascular	25
1.2.1. Fármacos que aumentan el riesgo cardiovascular.....	29
- Inhibidores de proteasa.....	29
- Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos.....	32
- Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos.....	32
1.2.2. Mecanismos por los que el TARGA aumenta el riesgo cardiovascular.....	33
- Dislipemia.....	34
- Resistencia insulínica y diabetes mellitus.....	34
- Lipodistrofia.....	35
- Síndrome metabólico.....	36
1.3. Efecto de los virus de la hepatitis sobre el desarrollo de la arteriosclerosis.....	39
1.4. Epidemiología de los factores de riesgo cardiovascular clásicos en los pacientes con VIH.....	41
1.5. Aterosclerosis subclínica.....	42
2. Valoración no invasiva del riesgo cardiovascular subclínico.....	43
2.1. Predicción del riesgo cardiovascular mediante modelos de riesgo multivariados.....	45
2.1.1. Modelo de Framingham.....	46
2.1.2. Modelo SCORE.....	48
2.2. Predicción del riesgo cardiovascular mediante técnicas no invasivas.....	51
2.2.1. Grosor íntima-media carotídeo.....	51
2.2.2. Onda arterial de pulso y rigidez arterial.....	58
2.2.3. Medición del calcio arterial coronario.....	61
2.2.4. Otras técnicas.....	59
2.2.5. Pacientes candidatos a métodos de detección de aterosclerosis subclínica.....	62
2.3. Riesgo cardiovascular y biomarcadores séricos.....	66
2.3.1. Marcadores de Inflamación.....	66
- Proteína C Reactiva.....	67
- Lp-PLA2.....	72
- Interleukina-6.....	80
2.3.2. Marcadores de estrés y daño miocárdico.....	81
- BNP y NT-proBNP.....	81
- Creatin kinasa-MB.....	83

2.3.3. Marcadores de trombosis.....	83
- Fibrinógeno.....	83
- Dímeros-D.....	83
- Homocisteína.....	84
- Otros factores de coagulación.....	84
2.3.4. Deterioro funcional renal como marcador de enfermedad cardiovascular.....	85
- Aclaramiento de creatinina estimado:ecuaciones MDRD y EPI.....	86
- Albuminuria.....	87
- Cistatina C.....	88
2.3.5. Necesidad de nuevos enfoques basados en marcadores de inflamación.....	90
II. HIPÓTESIS.....	93
III. OBJETIVOS.....	97
1. Objetivos principales.....	99
2. Objetivos secundarios.....	99
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....	101
1. Diseño del estudio.....	103
2. Población del estudio.....	103
3. Ámbito del estudio.....	104
4. Periodo del estudio.....	104
5. Selección de la muestra.....	104
6. Variables del estudio y recogida de la información.....	104
6.1. Variable dependiente.....	104
6.2. Variables independientes.....	108
6.2.1. Variables analíticas.....	109
6.2.2. Datos antropométricos.....	112
7. Consideraciones éticas.....	113
8. Análisis estadístico.....	114
8.1. Análisis descriptivo.....	114
8.2. Estudio piloto de fiabilidad o reproducibilidad inter-observador.....	114
8.3. Relación entre la edad y el GIMc.....	115
8.4. Análisis comparativo: presencia de ECVs.....	115
8.5. Concordancia entre la presencia de ECVs y el riesgo cardiovascular predicho mediante las ecuaciones de riesgo cardiovascular mediante Framingham y SCORE..	117
8.6. Contribución del Framingham y SCORE de las variables relacionadas con el VIH en la predicción de la ECVs.....	117
8.7. Deterioro renal y ECVs.....	118
V. RESULTADOS.....	121
1. Análisis descriptivo.....	123
2. Análisis comparativo en función de la presencia de enfermedad cardiovascular subclínica.....	129
2.1. Variables demográficas y factores de riesgo cardiovascular.....	129
2.2. Variables relacionadas con la infección por VIH.....	130
2.3. Niveles de biomarcadores.....	132

3. Análisis multivariado para las variables relacionadas con la presencia de enfermedad cardiovascular subclínica.....	138
4. Concordancia entre la presencia de enfermedad cardiovascular subclínica determinada por ecografía carotídea y la predicción basada en los modelos SCORE y Framingham.....	142
5. Características de los pacientes con discordancia entre la predicción de enfermedad cardiovascular subclínica basada en el modelo de Framingham y su presencia determinada por ecografía carotídea.....	146
6. Predicción del riesgo cardiovascular en la infección por VIH ajustando el modelo de Framingham.....	149
7. Características de los pacientes con discordancia entre la predicción de enfermedad cardiovascular subclínica basada en el modelo SCORE y su presencia determinada por ecografía carotídea.....	151
8. Predicción del riesgo cardiovascular en la infección por VIH ajustando el modelo de SCORE.....	155
9. Deterioro renal incipiente como marcador de daño vascular subclínico.....	157
VI. DISCUSIÓN..	167
1. Discusión del material y métodos.....	169
2. Descripción general de la muestra.....	172
3. Grosor íntima-media carotídeo.....	174
4. Discordancia entre la presencia de enfermedad cardiovascular subclínica determinada por ecografía carotídea y la predicción basada en los modelos SCORE y Framingham.....	181
5. Deterioro renal incipiente como marcador de daño vascular subclínico.....	186
VII. CONCLUSIONES	191
CONCLUSIONS	197
VIII. ANEXOS	201
1. Consentimiento informado.....	203
2. Cuestionario de la distribución de la grasa.....	205
3. Abstract: Mismatch between subclinical atherosclerosis and the calculated Framingham and SCORE risk prediction in HIV-infected patients.....	207
4. Abstract: Incipient renal impairment as a predictor of subclinical atherosclerosis in HIV-infected patients.....	209
IX. BIBLIOGRAFÍA	211
X. ÍNDICE DE TABLAS	
Tabla 1. Prevalencia de los principales factores de riesgo cardiovascular en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana.....	41
Tabla 2. Variables clínicas y analíticas en 250 individuos sanos en función del grupo de edad.....	53
Tabla 3. Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media medio y máximo de la carótida común en función del grupo de edad en varones.....	54
Tabla 4. Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media medio y máximo de la carótida común en función del grupo de edad en mujeres.....	54
Tabla 5. Estudios prospectivos relacionando los niveles basales de PCR con el riesgo de sufrir un primer evento cardiovascular.....	69
Tabla 6. Estudios prospectivos relacionando los niveles basales de LpPLA2 con el riesgo de sufrir un primer evento cardiovascular.....	76
Tabla 7. Características generales de la población.....	124

Tabla 8. Descripción de las variables relacionadas con la infección por VIH en el global de la muestra.....	125
Tabla 9. Valores del GIMc por rango de edad en 234 sujetos con infección por VIH.....	126
Tabla 10. Frecuencia de presencia de placa por edad y sexo en 234 sujetos con infección por VIH.....	128
Tabla 11. Características generales en la población de pacientes con infección por VIH en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc (GIMc >p75 o presencia de placa).....	130
Tabla 12. Diferencias en las variables relacionadas con la infección por el VIH en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc.....	131
Tabla 13. Diferencias entre biomarcadores en función de la presencia de ECVs determinada por GIMc.....	132
Tabla 14. Modelo de regresión logística para las variables relacionadas con la presencia de ECVs.....	140
Tabla 15. Concordancia entre el modelo FRAMINGHAM y la presencia ECVs determinada por ecografía carotídea.....	143
Tabla 16. Concordancia entre el modelo SCORE y la presencia de ECVs por ecografía carotídea.....	143
Tabla 17. Concordancia entre los modelos de Framingham y SCORE.....	145
Tabla 18. Características de los pacientes con discordancia entre el riesgo predicho por el modelo de Framingham y la presencia de ECVs determinada por GIMc.....	147
Tabla 19. Modelo de regresión logística para la presencia de discordancia con el modelo de Framingham.....	148
Tabla 20. Capacidad predictiva y clasificación de los sujetos mediante regresión logística del modelo de Framingham al añadir diferentes variables relacionadas con el VIH.....	150
Tabla 21. Características de los pacientes con discordancia entre el riesgo predicho por el modelo SCORE y la presencia de ECVs determinada por GIMc.....	153
Tabla 22. Modelo de regresión logística para la presencia de discordancia con el modelo SCORE.....	154
Tabla 23. Capacidad predictiva y clasificación de los sujetos mediante regresión logística del modelo de Framingham al añadir diferentes variables relacionadas con el VIH.....	156
Tabla 24. Niveles de distintos indicadores de función renal en función de la presencia de ECVs.....	157
Tabla 25. Correlación y AUC entre cociente albúmina/creatinina y presencia de ECVs determinada por GIMc.....	158
Tabla 26. AUC, sensibilidad, especificidad y odds ratio para la asociación entre diferentes definiciones de deterioro renal incipiente y la presencia de aterosclerosis carotídea.....	161
Tabla 27. Variables relacionadas con la presencia de deterioro renal incipiente.....	163

XI. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Correceptores del VIH y sus ligandos naturales.....	8
Figura 2. Esquema general de la formación de la placa ateromatosa.....	9
Figura 3. Infiltración del espacio endotelial por linfocitos T-CD4+.....	11
Figura 4. Formación de células espumosas en el espacio endotelial.....	15
Figura 5. Principales citocinas implicadas en el proceso aterosclerótico.....	67
Figura 6. Estructura molecular de la LpPLA2.....	73
Figura 7. Análisis de Bland-Altman.....	107
Figura 8. Diagrama de dispersión: relación lineal de la edad con el GIMc en varones.....	127

Figura 9. Diagrama de dispersión: relación lineal de la edad con el GIMc en mujeres.....	127
Figura 10. Diagrama de cajas. Niveles de glucemia en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.....	133
Figura 11. Diagrama de cajas. Niveles de hemoglobina glicosilada en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.....	134
Figura 12. Diagrama de cajas. Niveles de insulina en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.....	134
Figura 13. Diagrama de cajas. Grado de resistencia insulínica según el coeficiente HOMA en función de la presencia o no de ECVs.....	135
Figura 14. Diagrama de cajas. Niveles de Creatin kinasa-MB en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc.....	136
Figura 15. Diagrama de barras. Porcentaje de sujetos con valores de Dímeros-D elevados por encima del percentil 75 (333 ng/mL) en función de la presencia o no de aterosclerosis subclínica determinada por GIMc.....	137
Figura 16. Diagrama de barras. Porcentaje de sujetos con valores de NT-proBNP elevados por encima del percentil 75 (72,6 pg/mL) en función de la presencia o no ECVs determinada por GIMc.....	137
Figura 17. Área bajo la curva ROC para la presencia o no de ECVs en función de la predicción del RCV por los modelos de Framingham y SCORE.....	145
Figura 18. Diagrama de cajas. Cociente albúmina/creatinina en orina en función de la presencia o no de ECV subclínica.....	158
Figura 19. Área bajo la curva ROC para la presencia de ECVs en función del cociente albúmina/creatinina en orina.....	159

ABREVIATURAS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

3TC: Lamivudina
ABC: Abacavir
AHA: *American Heart Association*
ApoA: Apolipoproteína A
ApoB: Apolipoproteína B
ATP III: *American Treatment Panel III*
ATV: Atazanavir
ATV/r: Atazanavir potenciado con ritonavir
AUC: Área bajo la curva ROC
BNP: Péptido natriurético cerebral
CAC: Calcio arterial coronario
CCR2: *Chemokine Receptor 2*
CDC: *Center for Disease Control and Prevention*
cHDL: *High density lipoprotein-cholesterol*
CK: Creatin kinasa
CK-MB: Creatin kinasa, fracción MB
cLDL: *Low density lipoprotein-cholesterol*
CML: células musculares lisas
CV: Carga viral
cVLDL: *Very low density lipoprotein-cholesterol*
D4T: Estavudina
D:A:D: *Data Collection of Adverse Events Study*
DDI: Didanosina
DE: Desviación estándar
DRI: Deterioro renal incipiente
ECV: Enfermedad cardiovascular
ECVs: Enfermedad cardiovascular subclínica
EFV: Efavirenz
EMA: *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*
EPI: *Epidemiology Collaboration Group*
FDA: *US Food and Drug Administration*
FG: Filtrado glomerular
FM: *Foam cells* o células espumosas
FPV: Fosamprenavir
FPV/r: Fosamprenavir potenciado con ritonavir
FRAM: *Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection Study*
FRCV: Factor(es) de riesgo cardiovascular
GFR: *Glomerular filtration rate*
GIMc: Grosor íntima-media carotideo
HbA1C: Hemoglobina glicosilada
HOMA: *Homeostasis Model Assessment*
HOPE: *Heart Outcome Prevention Evaluation Study*
HOPS: *HIV Outpatient Study*
HR: *Hazard ratio*
IC95%: Intervalo de confianza del 95%

IDV: Indinavir
IL-6: Interleukina-6
ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos
ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleótidos
IP: Inhibidores de la proteasa
ITB: Índice tobillo-brazo
kDA: Kilodalton
Lp(a): Lipoproteína (a)
Lp-PLA2: Fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína A2
LPV/r: Lopinavir potenciado con ritonavir
MACS: *Multicenter AIDS Cohort Study*
MCP-1: *Monocyte chemoattractant protein-1*
NFV: Nelfinavir
NT-proBNP: Fracción N-terminal del péptido natriurético cerebral
NVP: Nevirapina
OR: Odds ratio
P50: Mediana o percentil 50
P75: Percentil 75
PAI-I: Inhibidor del activador del plasminogeno I
PCR: Proteína C reactiva ultrasensible
PET: Tomografía por emisión de positrones
PLA2: Fosfolipasa A2
PPAR: *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*
PROSPER: *The Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk*
RIQ: Rango intercuartílico
ROC: *Receiver Operating Characteristic* o Estadístico C
SCORE: *Systematic Coronary Risk Evaluation*
SMART: *Strategies for Management of Antiretroviral Therapy Study*
SQV: Saquinavir
SQV/r: Saquinavir potenciado con ritonavir
TC: Tomografía axial computerizada
TARGA: Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TNF- α : Factor de necrosis tumoral- α
VCAM: Molécula de adhesión vascular
VHB: Virus de la hepatitis B
VHC: Virus de la hepatitis C
VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana
WIHS: *Women's Interagency HIV Study*

I. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La aparición del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha supuesto que la incidencia de síndrome de inmunodeficiencia adquirida o muerte relacionada con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) haya disminuido drásticamente en los últimos años en los países que tienen acceso al mismo (1). Antes de 1996, la incidencia de mortalidad anual entre los sujetos con infección por VIH-1 superaba el 20%; tras una década de tratamiento eficaz, la mortalidad anual ha disminuido a menos del 2% (2).

Dado que los pacientes viven más tiempo con el VIH, existe una preocupación creciente por los problemas que puedan desarrollar los sujetos que reciben TARGA durante años, como son las alteraciones de la distribución de la grasa corporal, la lipoatrofia, el lipoacúmulo o la presencia simultánea de ambas (3;4). Además de los cambios en la distribución de la grasa corporal, los pacientes en TARGA presentan otras alteraciones metabólicas como son la dislipemia, diabetes mellitus, insulinoresistencia y esteatosis hepática (5). Existe una gran preocupación porque estas alteraciones metabólicas puedan suponer un aumento del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, por lo que comités de expertos han acordado identificar las prioridades de cara a la investigación con el objetivo de disminuir el riesgo cardiovascular (RCV) en estos pacientes.

1. INFECCIÓN POR EL VIH Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Existe evidencia epidemiológica de incremento del RCV en pacientes en TARGA, cuya interpretación se ve dificultada por la existencia de un aumento de prevalencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en estos enfermos: tabaquismo, dislipemia y aumento de resistencia a la insulina. Además, los factores de riesgo de enfermedad vascular subclínica (ECVs) no se encuentran bien identificados en la población de pacientes VIH y la importancia de los factores de riesgo tradicionales frente al efecto del tratamiento u otros FRCV alternativos, como los mediadores de inflamación e inmunidad, está aún por aclarar. Asimismo, parece que la propia infección por VIH en pacientes con carga viral indetectable en ausencia de tratamiento antirretroviral aumenta el grosor de la íntima-media en la carótida, por lo que se piensa que el propio VIH puede desempeñar un papel independiente en el desarrollo de aterosclerosis (6).

Diferentes líneas de investigación sugieren que existe un aumento de la morbilidad y la mortalidad cardiovasculares en la infección por VIH (7). Alguno de estos estudios se fundamenta en el análisis de marcadores surrogados de riesgo cardiovascular, utilizados por su buena correlación con la enfermedad aterosclerótica, como son principalmente el grosor íntima-media carotideo o la determinación del calcio arterial coronario.

Otra línea de estudios se basa en el uso de modelos matemáticos de grandes bases de datos. Por ejemplo, Grover et al. examinaron los eventos cardiovasculares según modelos de esperanza de vida y las ecuación de predicción de RCV de Framingham (8). Usando los datos sobre cambios en el perfil lipídico de dos grandes ensayos clínicos

con nelfinavir y atazanavir; un modelo de Járkov predijo un aumento del riesgo de desarrollar enfermedad coronaria de un 50% tras 10 años de consumo de nelfinavir. A pesar de que los pacientes con VIH muy rara vez se mantienen con el mismo TARGA durante décadas, este modelo sugiere que minimizar la dislipemia debe ser una prioridad para los clínicos, en particular en pacientes con otros FRCV añadidos.

Finalmente, una tercera línea de estudios analiza los eventos clínicos, como la incidencia de ictus o de infarto de miocardio. Estos estudios por lo general sugieren un aumento del riesgo de presentar eventos cardiovasculares en los pacientes que en los sujetos infectados por el VIH existe un aumento del RCV (9-14) . Muchos de estos estudios son retrospectivos y varios tienen un valor limitado por el hecho de no comparar con un grupo control VIH seronegativo. Hasta qué punto el VIH determina un incremento del RCV, es una pregunta que podrá contestada con mayor exactitud en el futuro, ya que en muchas de las cohortes de estudio se recogiendo datos en la actualidad sobre la evolución de estos pacientes. Las cohortes más relevantes son las siguientes:

- *French Hospital Database in HIV*: estudio prospectivo llevado a cabo entre 1996 y 1999 en 34.976 varones infectados por el VIH que ingresaron o fallecieron por infarto de miocardio (13). El riesgo de infarto de miocardio aumentó con la duración del tratamiento con inhibidores de proteasa (IP). Los sujetos que habían recibido IP durante más de 18 meses presentaron el doble de riesgo de sufrir un infarto de miocardio que aquéllos cuya duración del tratamiento había sido menor.

- *Cohorte APROCO: comparó el RCV predicho en una cohorte de pacientes con infección por VIH tratados con IP con una cohorte de sujetos VIH-negativos (14). Dicho riesgo fue superior en los sujetos VIH positivos, tanto varones como mujeres (odds ratio 1.2 y 1.59 respectivamente).*
- *Veterans Affairs Quality Enhancement Database for HIV: estudio retrospectivo que evaluó en 36.766 veteranos de guerra VIH positivos entre 1993 y 2001 el riesgo de eventos cardiovasculares y cerebrovasculares (9). Los autores hallaron que entre 1995 y 2001 la mortalidad global disminuyó un 75%, mientras que la tasa de ingresos por enfermedad cardiovascular y cerebrovascular se mantuvo constante. Sin embargo, la duración media del TARGA fue de 15 meses, una exposición breve para el desarrollo de ECV.*
- *Grupo de estudio D:A:D: (The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs): estudió prospectivamente la incidencia de infarto de miocardio en 23.468 sujetos con VIH en Australia, Europa y EEUU (11). Tras una mediana de seguimiento de tres años se registraron 126 episodios, con un aumento del 26% por año de TARGA durante los primeros 4-6 años de exposición al tratamiento.*
- *Ensayo SMART: los estudios anteriores sugieren que la duración del TARGA se asocia con un incremento del riesgo de presentar eventos cardiovasculares. Sin embargo, este ensayo, uno de los más importantes de interrupción del TARGA, demostró que los pacientes aleatoriamente asignados a la rama de interrupción del tratamiento presentaron un riesgo mayor de sufrir eventos cardiovasculares que los sujetos en la rama de TARGA ininterrumpido, con un riesgo relativo de 1.6 (15). Estos resultados sugieren que la supresión de la replicación viral puede ser particularmente importante en la disminución del RCV a través de la*

reducción de citokinas proinflamatorias (ej. IL-6), que pueden jugar un importante papel en la inflamación arterial (16).

Los pacientes con infección por VIH pueden tener mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) aterosclerótica debido a diferentes causas. En primer lugar, la infección por VIH afecta a la pared arterial y tiene capacidad por sí misma de acelerar el proceso aterosclerótico. En segundo lugar, provoca una infección sistémica crónica; y cada día se da mayor importancia al papel de la inflamación en la patogenia de la aterosclerosis y de los eventos cardiovasculares (17-20). En tercer lugar, las alteraciones metabólicas que presentan estos pacientes pueden conducir a la aparición de dislipemia, disfunción endotelial, hipercoagulabilidad, activación plaquetaria y disminución de la fibrinólisis (21;22). En cuarto lugar, los sujetos con VIH difieren desde el punto de vista epidemiológico de los sujetos VIH negativos con síndromes coronarios agudos: se trata de individuos más jóvenes, con niveles de colesterol HDL (cHDL) menores, menor enfermedad angiográfica aparente y mayor necesidad de reintervencionismo coronario por estenosis del stent (11;23). Finalmente, los pacientes con VIH pueden presentar mayor enfermedad aterosclerótica debido a la mayor prevalencia de FRCV tradicionales independientes de la infección VIH en sí misma, como son el sexo varón, el tabaquismo, la dislipemia y la intolerancia a la glucosa.

1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA ATEROSCLEROSIS EN LA INFECCIÓN POR VIH

1.1.1. DAÑO VIRAL DIRECTO

La enfermedad aterosclerótica de los pacientes con VIH presenta unas características histológicas únicas, como es la rápida progresión de lesiones arteriales difusas, circunferenciales con proliferación de células musculares lisas, fibras elásticas y protrusiones endoluminales (24), lo que sugiere que la fisiopatología del desarrollo de la lesión ateromatosa difiere entre pacientes los infectados y la población general.

En la formación de la placa de ateroma intervienen citokinas, cuyos receptores son los correceptores del VIH; el virus necesita de estas proteínas de membrana para poder entrar en la célula (fig. 1) (25).

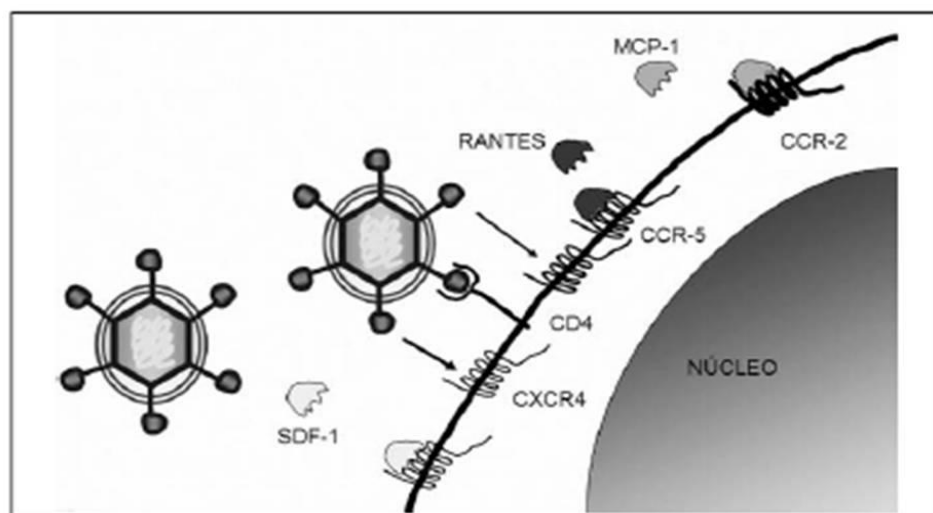


Figura 1. Correceptores del VIH y sus ligandos naturales (tomado de Alonso-Villaverde C. et al.(25)

La lesión ateromatosa está compuesta por una matriz celular y un núcleo central lipídico que en, en ocasiones, se puede calcificar. La matriz celular está conformada por varias estirpes celulares: leucocitos (principalmente linfocitos, macrófagos y algún mastocito) y células musculares lisas. La matriz celular y el núcleo lipídico están incluidos en la pared arterial. Entre la lesión y la luz arterial se puede observar una capa formada por células musculares lisas y células endoteliales con alto contenido de colágeno (26). Por la zona externa se pueden diferenciar las capas media y adventicia arteriales (fig. 2) (25).



Figura 2. Esquema general de la formación de la placa ateromatosa. CE: células endoteliales. CML: células musculares lisas. FM: foam cell (célula espumosa). LT: linfocitos T. Tomado de Alonso-Villaverde C. et al. (25)

El proceso de la formación de la placa de ateroma dura décadas y la repercusión clínica aparece generalmente de forma aguda, cuando se ocluye la arteria, produciendo un episodio isquémico. En este proceso se pueden distinguir tres fases:

Fase I: Infiltración leucocitaria del espacio subendotelial

La infiltración leucocitaria del espacio subendotelial en los pacientes infectados por el VIH destaca por algunas particularidades propias de la infección. En primer lugar, los linfocitos infectados tienen mayor capacidad de penetración en el espacio subendotelial que los no infectados (27). La explicación a este fenómeno podría ser un aumento de permeabilidad del endotelio vascular inducido por la proteína viral Tat (28). Posteriormente, cuando el linfocito entra en el espacio subendotelial, establece contacto con las células endoteliales, lo que induce un aumento de la replicación viral (29), y por tanto, también un aumento en la expresión de proteínas virales en el espacio subendotelial.

En un medio de cultivo con la proteína viral Tat, las células endoteliales muestran una expresión aumentada de citokinas atrayentes de los macrófagos (30), en particular la *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1/CCR2) y aumento de las moléculas de adhesión, como VCAM-1 (31). Por tanto, se favorece la atracción de los monocitos hacia la pared arterial y su adhesión a la misma, facilitando también su penetración al espacio subendotelial mediante proteínas como la fibronectina (32) (fig. 3).

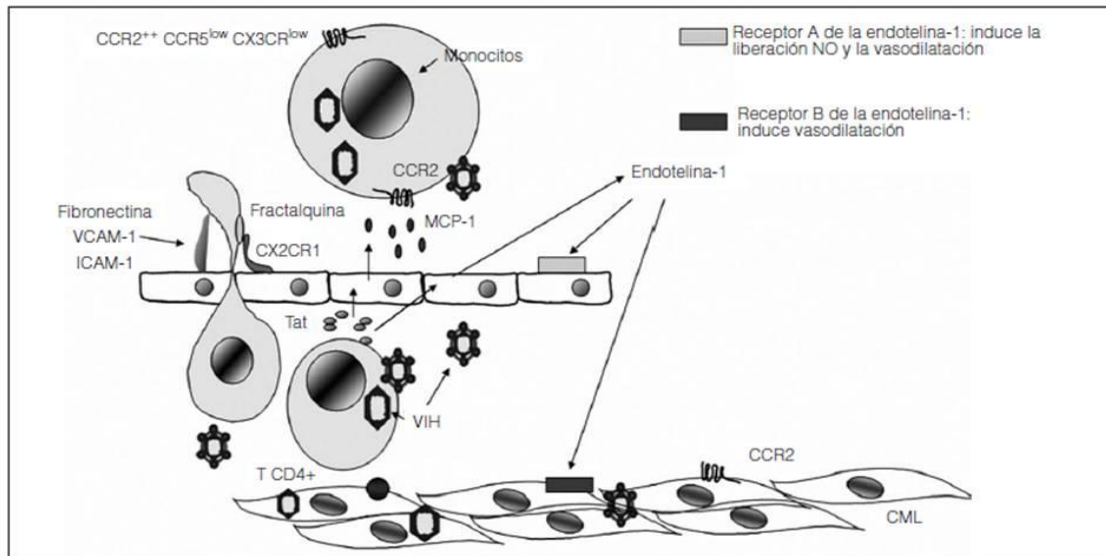


Figura 3. Infiltración del espacio endotelial por linfocitos T-CD4+. El VIH infecta a macrófagos, linfocitos y células musculares lisas. Tomado de Alonso-Villaverde C. et al. (25)

Estos monocitos que infectados por el VIH penetran en el espacio subendotelial se caracterizan por expresar un fenotipo particular, con gran cantidad de receptores CCR2 en su superficie, y poca cantidad de CCR5 y de CX3CR1, otro correceptor del VIH in vitro.

Otra particularidad del proceso aterosclerótico en el contexto de la infección por VIH, son las complejas interacciones entre las citocinas y sus receptores. Hay citocinas que pueden actuar sobre varios receptores, que a su vez están presentes en diversas estirpes celulares. Clínicamente, las variaciones génicas de estas proteínas se traducen en cambios en la incidencia de ECV. Por ejemplo, ciertos polimorfismos de CX3CR1, se han mostrado protectores de episodios coronarios en la población general.

En la infección por VIH se ha comprobado que los pacientes, a través de interacciones entre citokinas inflamatorias, proteínas virales y receptores celulares, pueden presentar disfunción endotelial. La infección por el VIH en la pared arterial no solo se localiza en el espacio subendotelial sino que también afecta a las células musculares lisas arteriales, las cuales expresan en su pared celular el receptor para MCP-1, también conocido como CCR-2.

CCR-2 también se conoce por ser correceptor del VIH, al menos in vitro (33) (fig. 3). Por otro lado, las proteínas virales Tat y gp120 inducen en el endotelio vascular un aumento en la producción de endotelina-1, el vasoconstrictor más potente conocido (34;35). Se ha demostrado que los pacientes infectados por el VIH presentan más disfunción endotelial que los controles sanos y los pacientes tratados con antirretrovirales presentan mayor disfunción endotelial aun que los no tratados (36).

Moléculas relacionadas con la fase I

Interleukina-6

Se sintetiza fundamentalmente en los linfocitos T y en los macrófagos. Es crucial para la activación leucocitaria y endotelial y también induce la síntesis de la proteína C reactiva en el hígado (37). Se expresa en ciertas zonas de la placa, y contribuye a un aumento de la inestabilidad de la placa al inducir a su vez metaloproteinasas que degeneran la matriz de la placa de ateroma. También induce la síntesis de MCP-1 y factor de necrosis tumoral (TNF)- α (38).

MCP-1

Activa la migración de macrófagos hacia lugares donde existe una señal antiinflamatoria, promoviendo además su migración de los macrófagos hacia el espacio subendotelial. Las concentraciones elevadas se asocian a una mayor mortalidad a los 10 meses de un infarto de miocardio (39); y predice un nuevo episodio en pacientes que ya lo han tenido (40).

Interleucina-18

La interleukina-18 promueve la expresión de interferón- γ , un mediador de la progresión de la placa de ateroma (41). Sus niveles están aumentados en placas inestables carotideas. Los pacientes con angina inestable que tienen valores en el cuartil superior presentan mayor mortalidad (42).

Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (PCR), en la que se profundizará más adelante, proporciona quizás una integración funcional de la dinámica entre las diversas citokinas que están directamente implicadas en la aterogénesis (43).

RANTES

Es una citokina producida por leucocitos; además se encuentra en gran cantidad en las plaquetas que la liberan en el momento de la formación del trombo. Los valores bajos de RANTES se asocian con una menor reincidencia del episodio coronario en pacientes con cardiopatía isquémica previa (44).

ICAM-1, sVCAM-1 y selectina-P

Son moléculas de adhesión. Promueven la adhesión de los leucocitos sobre el endotelio vascular, lo que permite la penetración de los monocitos en el espacio subendotelial. Sus valores se hallan aumentados situaciones de inflamación crónica como la artritis reumatoide (45). Se han relacionado con la disfunción endotelial y con la presencia de factores cardiovasculares clásicos (46).

Fase II - Formación del núcleo lipídico de la placa de ateroma

Una vez se han instalado los macrófagos en el espacio subendotelial expresan un receptor que se encargará de captar lipoproteínas modificadas. Este receptor se denomina *scavenger receptor* o CD36.

En estudios in vitro, la expresión de este receptor está aumentada en presencia de inhibidores de proteasa (47). En este punto del proceso aterosclerótico, el macrófago empieza a fagocitar ávidamente lipoproteínas modificadas acumulando ésteres de colesterol en su interior y transformándose en una célula espumosa o *foam cell*. La apoptosis de estas células y la coalescencia de sus depósitos de colesterol acaban formando el núcleo lipídico de la placa (fi g. 4).

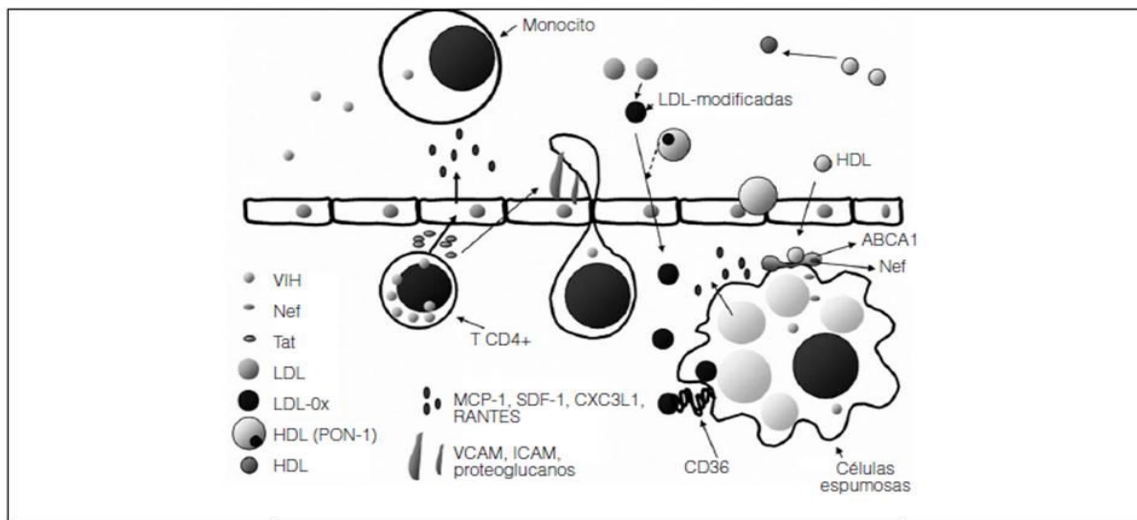


Figura 4. Formación de células espumosas en el espacio endotelial. Tomado de Alonso-Villaverde C. et al. (25)

La formación de las células espumosas está limitada por la cantidad de lipoproteínas modificadas presentes en el entorno. Cuanto más tiempo permanezcan las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) en circulación, más posibilidades tendrán de ser modificadas. Los IP inhiben la expresión del receptor de cLDL y, por tanto, afectan al mecanismo de eliminación de estas lipoproteínas (48). Además, las lipoproteínas pueden glicosilarse situaciones de resistencia a la insulina u oxidarse en circunstancias de estrés oxidativo, como ocurre en la infección crónica por VIH debido a la presencia de F2-isoprostanos (49), efecto que se ha correlacionado con la carga viral.

El transporte reverso de colesterol mediado por las cHDL debería de contrarrestar esta situación extrayendo colesterol de las células espumosas, pero su receptor, denominado ABCA1, que permite el tránsito de colesterol hacia las cHDL, se ve inhibido por la proteína viral *Nef*. A este hecho se suma el que las cHDL, en situaciones pro-oxidativas, sufren un cambio transformacional. Ambos factores condicionan que en la infección por VIH, el transporte reverso de colesterol se vea seriamente afectado (25).

Moléculas implicadas en la fase II

Mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa es una peroxidasa abundante en los gránulos de los neutrófilos. Un amplio estudio angiográfico demostró que los pacientes con enfermedad coronaria tenían valores elevados de mieloperoxidasa con respecto a los controles. Además, los valores elevados se asociaron a una progresión de enfermedad coronaria estable a inestable (50).

Fosfolipasa A2

La fosfolipasa A2 (PLA2) hidroliza el ácido araquidónico de los lisofosfolípidos. Posteriormente el ácido araquidónico, a través de las ciclohdroxigenasas, se convierte en eicosanoides, los cuales incluyen prostaglandinas y leucotrienos, potentes moléculas antiinflamatorias.

Fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (LP-PLA2)

La Lp-PLA2 es una PLA2, conocida también como el factor activador de plaquetas acetilhidrolasa. Se encuentra unida a las cLDL, se sintetiza en células inflamatorias e hidroliza fosfolípidos en las cLDL. Sobre esta molécula profundizaremos más adelante.

F2-isoprostanos

Son derivados oxidados del ácido araquidónico; refleja el estado oxidativo lipídico.

Son un marcador emergente de enfermedad cardiovascular (49).

Fase III- Desestabilización de la placa de ateroma

Tras formarse la placa de ateroma, el acontecimiento final es su inestabilización y ruptura, provocando el trombo que ocluirá la arteria afectada. Sobre el núcleo de colesterol hay una capa fibrosa compuesta por colágeno y células musculares lisas, y recubierta por células endoteliales que las separan de la luz arterial.

Diferentes factores pueden contribuir a la ruptura de la placa de ateroma. En primer lugar, la placa de ateroma se puede descamar, produciéndose una erosión en la superficie endotelial, y exponiendo, por tanto, parte de la matriz de la placa, lo que originará la formación del trombo. Si bien el mecanismo de la “descamación endotelial” no es bien conocido, es cierto que las lesiones inducidas por el VIH y el TARGA pueden provocar su apoptosis y muerte celular. El propio VIH puede inducir la expresión de metaloproteasas, que también podrían inducir la mencionada

descamación endotelial. Además, algunos antirretrovirales inducen la formación de radicales libres y provocan disfunción mitocondrial en las células endoteliales (51).

Por otra parte, el interferón- γ producido en la placa inhibe la producción de colágeno, prevaleciendo la acción de colagenasas y metaloproteasas, con la consiguiente rotura de esta capa fibrosa. Esta rotura pone en contacto elementos del interior de la placa con la luz arterial, iniciando el proceso de formación del trombo mediante la agregación plaquetaria.

Cuando se activa la plaqueta, ésta libera diversas citokinas inflamatorias que, a su vez, reactivan los procesos ya iniciados por los macrófagos. Se libera la citokina RANTES, ligando principal del correceptor del VIH, CCR-5. Se ha observado que las plaquetas de los pacientes infectados por el VIH liberan más RANTES que las de los controles sanos (52;53).

Moléculas implicadas en la fase III

Factor von Willebrand

Es una glucoproteína sintetizada en el endotelio, transportada por las plaquetas y expresada en el tejido conectivo subendotelial. Tiene una fuerte asociación con el grosor de la íntima-media arterial. Parece ser un mejor predictor para el accidente cerebrovascular que para el episodio coronario (54).

Factor tisular, Factor III de la coagulación, CD142 o tromboplastina

Presente en leucocitos, en el espacio subendotelial y en las plaquetas. Es responsable de iniciar la vía extrínseca de la coagulación. Aunque está implicado directamente en la génesis de la placa de ateroma, no ha demostrado ser un marcador de enfermedad vascular (55).

Factor tisular del plasminógeno (tPA o PLAT)

Se sintetiza en las células endoteliales y cataliza la conversión del plasminógeno a plasmina. Es responsable a su vez de la fibrinólisis del trombo ya constituido. Es capaz de predecir la recurrencia de infarto de miocardio en varones y mujeres cuando se combina con el inhibidor del activador del plasminógeno I (PAI-I) (56).

Metaloproteasas 2 y 9

Las metaloproteasas son más de 20 endopeptidasas dependientes del cinc que degradan proteínas y proteinoglucanos situados en la matriz extracelular de la placa de ateroma. La actividad de las metaloproteasas 2 y 9 es significativamente superior en pacientes con enfermedad coronaria respecto a sujetos sanos (57).

sCD40L

Se trata de un marcador de superficie linfocitario en células T, aunque también se expresa en las plaquetas. Está implicada en la agregación plaquetaria y en la estabilidad de la placa de ateroma. Identifica el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares en pacientes con enfermedad coronaria (58).

Fibrinógeno

Es el precursor de la fibrina en la formación del trombo y está implicado en la génesis de la placa de ateroma. Un estudio en diabéticos mostró que junto con el valor de leucocitos se asociaba de forma independiente al grosor de la íntima-media arterial. Sin embargo, su capacidad predictora del episodio coronario no está bien esclarecida (59;60).

RANTES

Esta molécula desempeña un importante rol nuevamente en el momento que la placa se inestabiliza; tras ser liberada de forma masiva por las plaquetas, amplifica la respuesta inflamatoria atrayendo a más monocitos y acelerando así el proceso (54).

Si bien la fisiopatología no se conoce en profundidad, ya hemos visto cómo el VIH puede acelerar el proceso aterosclerótico. Otros mecanismos han sido propuestos, como son la dislipemia asociada al VIH, la disfunción y el daño endotelial, el estado de inflamación crónica y la hipercoagulabilidad asociada al VIH.

1.1.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Además del efecto del propio virus sobre el proceso aterosclerótico, se ha postulado que el TARGA sea también causa de disfunción endotelial en la infección por VIH. En un estudio de cohortes retrospectivo con esquemas de tratamiento inicial basados en IP o en inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN), los marcadores de activación endotelial (MCP-1, P-selectina, VCAM y factor de Von Willebrand) disminuyeron paralelamente con el paso del tiempo (61). Sin embargo,

niveles aumentados de estos marcadores se encontraron en el mes 0, 3, 6 y 12 de seguimiento en pacientes sin tratamiento y con linfocitos CD4 >500 cel/mL. Comparado con los pacientes con infección por VIH, los controles sanos tenían niveles significativamente menores de cada uno de los marcadores estudiados en cada momento del seguimiento.

Además, datos provenientes de ensayos clínicos aleatorizados en pacientes naïve, han demostrado una mejoría de la función endotelial en la arteria braquial durante las primeras 24 semanas de tratamiento (62). Estos datos sugieren que es en realidad la infección crónica por el VIH, y no el tratamiento farmacológico, la que induce alteraciones en los marcadores de función endotelial. Todavía son necesarios estudios de larga duración que determinen si esta mejoría que se obtiene al iniciar el TARGA se mantiene a lo largo del tratamiento.

1.1.3. INFLAMACIÓN CRÓNICA

Numerosos estudios apoyan el papel de la inflamación en la activación y disfunción endotelial, en el desarrollo de la placa de ateroma y la progresión de la aterosclerosis (17;19;25;63-72). Pocos estudios han investigado la relación entre los marcadores de activación endotelial y el GIMc. En la población general, en un estudio realizado sobre la cohorte de descendientes del estudio de Framingham (*Offspring Cohort of the Framingham Heart Study*) encontró relación entre los marcadores de inflamación y el GIMc (71). Sin embargo, cuando se ha examinado el papel de la inflamación crónica

en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 los resultados han sido contradictorios (73-75).

Los sujetos con infección por el VIH presentan aterosclerosis acelerada (24), disfunción endotelial (76), disminución de la elasticidad arterial (77) y aumento de los marcadores de y marcadores de inflamación aumentados.

Como ya se ha comentado, la infección por el VIH se acompaña de una activación de diversas vías inflamatorias de la pared vascular (78), que conduce a la liberación de citokinas y la expresión de moléculas de adhesión endotelial que facilitan la adherencia y trans migración de los leucocitos. Se han encontrado concentraciones plasmáticas superiores de TNF- α y de IL-6 en pacientes con infección por el VIH respecto a sujetos seronegativos, y se ha descrito una asociación entre ambas citokinas y la carga viral del VIH (79).

Los niveles de molécula de adhesión intercelular ICAM-1, la molécula de adhesión vascular VCAM-1 y el factor von Willebrand también se han encontrado significativamente aumentadas en pacientes con infección VIH naïve respecto a sujetos seronegativos, y se ha observado una disminución de sus concentraciones plasmáticas paralela al descenso de carga viral del VIH con el TARGA, tanto con pautas con IP como con ITINAN.

La importancia de la replicación del VIH en la fisiopatología del RCV se ha puesto de manifiesto en los estudios de interrupción de tratamiento, fundamentalmente en el

estudio SMART, mencionado anteriormente. Este ensayo clínico demostró que la interrupción del TARGA se asociaba con un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas y de mortalidad cardiovascular (15). Las concentraciones basales elevadas de IL-6, dímeros-D y PCR se asociaron con un riesgo aumentado de mortalidad por todas las causas. Con un diseño de casos y controles anidado, en los pacientes que interrumpían el tratamiento hubo un aumento en las concentraciones de IL-6 y de dímero-D de un 30 y un 16%, respectivamente, al cabo de 1 mes, frente al 0 y 5% en el grupo de tratamiento ininterrumpido. Los incrementos de los biomarcadores en el grupo de tratamiento intermitente se relacionaron de forma positiva con la carga viral del VIH. La odds ratio para mortalidad, que era del 1,8 (intervalo de confianza IC95%: 1,1-3,1) para los pacientes del grupo de tratamiento intermitente frente al continuo se redujo a 1,5 (IC95%: 0,8-2,8) y 1,4 (IC95% 0,8-2,5) al ajustar por valores de IL-6 y dímero D, respectivamente.

1.1.4. ESTRÉS OXIDATIVO

Existe evidencia de que el estrés oxidativo juega un papel clave en la patogénesis de la arteriosclerosis en población general. Varios estudios en pacientes con VIH han encontrado un aumento del grado de estrés oxidativo (80;81), cuyas consecuencias a largo plazo, incluido su papel en el desarrollo prematuro de arteriosclerosis, se hallan actualmente en fase de investigación.

Un estudio transversal en pacientes con infección por el VIH encontró una asociación de la concentración total de peróxidos, un marcador de estrés oxidativo, con algunos

FRCV, como el colesterol cLDL y la PCR (82). En la patogénesis del estado prooxidativo de estos pacientes de nuevo se ha implicado tanto al propio virus como al TARGA. El VIH induce estrés oxidativo y depleción de óxido nítrico a nivel vascular en ratas transgénicas (83).

Un estudio in vitro demostró una inhibición de la síntesis de la enzima superóxido dismutasa en células HeLa y T por la proteína Tat del VIH, lo que podría explicar su efecto pro-oxidativo (84). Aunque en algunos estudios clínicos, el TARGA, especialmente los IP, se ha asociado con el estrés oxidativo (80;85), otros han demostrado un papel protector del TARGA (86) o de determinados fármacos antirretrovirales, como los ITINAN (82), lo que apoyaría el efecto pro-oxidativo del virus.

1.2 EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL SOBRE EL RIESGO CARDIOVASCULAR

Ya se ha comentado cómo la propia infección por VIH incrementa *per se* el RCV. Por otro lado, el TARGA prolongado también se ha asociado a un incremento del RCV. Este hecho es especialmente importante ya que, a pesar de que el TARGA ha demostrado su eficacia en el control de la infección, ha mostrado también su incapacidad para lograr la erradicación viral, y ello obliga a mantener de forma ininterrumpida el tratamiento una vez instaurado (87). Sin embargo, también es un hecho claramente demostrado que la interrupción del TARGA en pacientes que lo reciben de forma crónica, se asocia a un incremento del riesgo de presentar complicaciones, tanto relacionadas con la infección por el VIH como no relacionadas, y entre ellas, las enfermedades cardiovasculares (15).

Pese a ello, es preciso insistir en un hecho básico: el riesgo absoluto asociado a la existencia de una infección por el VIH no controlada sobrepasa ampliamente el riesgo de enfermedad coronaria asociada al TARGA. Así, en un estudio retrospectivo sobre RCV y cerebrovascular llevado a cabo en 36.766 pacientes infectados por el VIH entre 1993 y 2001, se encontró que la mortalidad global descendió desde 21,3 a 5,0 muertes por 100 pacientes/año (9). Este descenso de mortalidad se atribuyó al uso del TARGA, y sirvió para resaltar que conseguir una supresión viral eficaz es mucho más importante para el pronóstico de los pacientes que evitar el potencial riesgo cardiovascular asociado al TARGA.

Sin embargo, resulta evidente que un importante porcentaje de pacientes infectados por el VIH pueden desarrollar a lo largo de su evolución condiciones y factores adicionales que incrementan su RCV, como dislipemia, hiperglucemia y obesidad central (88).

En los últimos años, diversos estudios han intentado esclarecer la asociación entre infección por el VIH, TARGA y ECV. A continuación se describen los estudios más relevantes:

- El *Kaiser Permanent Registry Study* comprobó los diagnósticos de alta de la *Kaiser Permanente Northern California Health Maintenance Organization*. Identificaron 4.159 varones infectados por el VIH de entre 35 y 64 años (89). La tasa de episodios cardiovasculares ajustada a edad entre pacientes infectados por el VIH fue superior a la de controles no infectados por el VIH (6,3 frente a 3,7 por 1.000 pacientes-año; $p < 0,001$). Sin embargo, la tasa de infartos de miocardio en pacientes que recibían IP no fue estadísticamente superior a la de los pacientes que no recibían IP (4,0 frente a 3,4 por 1.000 pacientes-año). La principal limitación de este estudio fue el escaso tiempo de exposición al TARGA.
- En la *French Hospital Database on HIV* se observó una relación entre el tiempo de exposición a IP y la incidencia de infarto de miocardio en 34.976 pacientes infectados por el VIH (13). En este estudio, 60 pacientes, de los cuales 49 recibían IP, presentaron infarto de miocardio. El riesgo relativo para infarto de miocardio de la exposición a IP fue de 2,56 y se estimó que la incidencia de

infarto de miocardio en pacientes que recibieron IP durante más de 30 meses fue 2,9 veces superior (rango: 1,5-5,0) a la de la población general francesa.

- En el análisis de los datos de la *Veterans Affairs Quality Enhancement Database for HIV*, en la que 36.766 pacientes infectados por el VIH fueron seguidos durante una media de 40 meses (9), la incidencia de episodios cardiovasculares o cerebrovasculares no fue significativamente mayor entre pacientes que recibían IP que entre los que no recibían IP. Tampoco se puso de manifiesto relación entre el uso de cualquier terapia antirretroviral y la incidencia de episodios cardiovasculares o cerebrovasculares. La principal limitación del estudio fue el escaso tiempo de exposición a IP (mediana, 16 meses).
- En las cohortes estadounidenses WIHS (*Women's Interagency HIV Study*), formada por mujeres, y MACS (*Multicenter AIDS Cohort Study*), formada por varones homosexuales (90), que incluyó a individuos con infección por el VIH y a otros sin infección por el VIH pero expuestos a ésta, se evaluó el riesgo de los pacientes con infección por el VIH de desarrollar cardiopatía isquémica a 10 años y se analizaron los factores asociados. Se reclutaron 2.386 personas infectadas por el VIH y 1.675 no infectadas. Para el cálculo del RCV se utilizó la ecuación de Framingham. El estudio puso de manifiesto un mayor riesgo en los varones infectados que en los no infectados por el VIH, que la existencia de enfermedad avanzada por el VIH constituye un factor favorecedor de cardiopatía isquémica y que la inclusión de IP en el TARGA se asocia con un mayor riesgo de cardiopatía isquémica, el cual es el doble del que presentan los

pacientes naïve y un 35% mayor del de los pacientes tratados con regímenes sin IP. No obstante, el riesgo que aportan los IP fue considerablemente menor que el de algunos FRCV “clásicos”, como el tabaquismo, la dislipemia y la diabetes; además, dichos antirretrovirales pueden contrarrestar en parte el riesgo que supone la propia infección por VIH.

- El *Data Collection of Adverse Events Study (D:A:D)*, es un estudio prospectivo observacional que incluye pacientes procedentes de 11 cohortes de Europa, Australia y Estados Unidos. En la primera publicación del estudio, realizada en 2003 (87), se observaron 126 infartos de miocardio (incidencia de 3,5 por 1.000 pacientes-año). La incidencia de infarto de miocardio aumentó conforme lo hizo la exposición al TARGA, oscilando desde 0,32 para los pacientes sin TARGA hasta 2,93 para más de 6 años de TARGA. Se identificaron como factores predictivos de infarto de miocardio el antecedente de ECV (HR=5,8; $p < 0,001$), tabaco (HR=2,17; $p < 0,007$), uso de TARGA (RR=1,26; $p < 0,001$), edad (HR=1,38; $p < 0,001$) y sexo masculino (HR=1,99; $p < 0,04$). Se observó que durante los 6 primeros años de TARGA se produjo un incremento del riesgo de desarrollar infarto de miocardio del 26%.
- Por último, el beneficio del TARGA para reducir episodios relacionados y no relacionados con el VIH se ha demostrado por los resultados obtenidos en el *Strategies for Management of Antirretroviral Therapy (SMART) Study* (15), que mostró que la terapia antirretroviral intermitente basada en el recuento de linfocitos CD4+ se asoció con un incremento significativo de progresión de la

enfermedad y riesgo de muerte. En este estudio, la interrupción del tratamiento se asoció con un incremento del riesgo cardiovascular en pacientes infectados por el VIH.

Por tanto, hay evidencias que sugieren una relación entre el TARGA y el desarrollo de episodios cardiovasculares, especialmente infarto de miocardio. Sin embargo, este riesgo puede ser calificado como modesto en contraposición a las primeras estimaciones realizadas. Además, la mayoría de los estudios coincide en que el riesgo absoluto de desarrollar infarto de miocardio en pacientes que reciben TARGA es muy bajo con relación al alto beneficio obtenido por la terapia antirretroviral.

1.2.1. FÁRMACOS QUE AUMENTAN EL RIESGO CARDIOVASCULAR

- **Inhibidores de la proteasa**

Los IP han sido la familia de fármacos antirretrovirales clásicamente asociada a incremento del riesgo cardiovascular. Los IP como familia se han asociado a alteraciones metabólicas (87). Ciertos IP clásicos pueden, incluso a corto plazo, producir alteraciones metabólicas como dislipemia y resistencia a la insulina (87;91). Sin embargo, los fármacos que integran la clase de los IP tienen perfiles metabólicos diferentes y, por ello, su impacto sobre el RCV podría ser también diferente.

El estudio *BMS-034* es un ensayo clínico doble ciego en el que se comparó la eficacia de atazanavir (ATV) no potenciado con ritonavir frente a efavirenz

(EFV), ambos en asociación con zidovudina mas lamivudina, como terapia de inicio (92). Dicho estudio demostró que el perfil metabólico de ATV era muy favorable. El colesterol total pasó de 158 a 156 mg/dl con ATV y de 154 a 179 mg/dl con EFV. El colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) pasó de 89 a 88 mg/dl con ATV y de 86 a 105 mg/dl con EFV. El colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) pasó de 37 a 41 mg/dl con ATV y de 36 a 43 mg/dl con EFV, y los triglicéridos pasaron de 119 a 102 mg/dl con ATV y de 110 a 136 mg/dl con EFV. Estos datos indican que ATV presenta un perfil metabólico diferente al de los demás IP (87).

Por otro lado, es importante destacar el papel que juega el uso de ritonavir en el incremento del RCV. En este sentido, resulta muy ilustrativo el estudio BMS-089, un estudio que comparó ATV potenciado con ritonavir (ATV/r) frente a ATV, ambos en asociación a lamivudina y estavudina en terapia de inicio, y que demostró que ATV/r produce una incremento de cLDL y triglicéridos superior al de ATV (93).

Diversos ensayos clínicos han comparado la eficacia y seguridad entre IP potenciados. En el estudio *Klean*, que comparó la eficacia y seguridad de FPV/r y lopinavir/ritonavir (LPV/r), se comprobó que ambos fármacos provocaban un incremento comparable de las concentraciones lipídicas (94).

En el estudio *Castle* (95), que comparó la eficacia y seguridad de ATV/r y LPV/r, la proporción de pacientes con colesterol total ≥ 240 mg/dl fue mayor en la

rama de LPV (18%) que en la de ATV (7%), los incrementos medios de colesterol total (el 24 frente al 12%), no-cHDL colesterol (el 21 frente al 7%) y triglicéridos (el 51 frente al 13%) fueron significativamente mayores con LPV que con ATV. Además, el consumo de medicación hipolipemiente también fue mayor en los pacientes con LPV (7%) que en los pacientes con ATV (2%).

El estudio *Artemis* (96) es un ensayo clínico cuyo objetivo primario fue comparar la eficacia y seguridad de darunavir/r (800/100 mg 1 vez al día) frente a LPV/r (400-100 mg 2 veces al día), ambos en asociación a tenofovir mas emtricitabina en pacientes sin tratamiento antirretroviral previo. La proporción de pacientes con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia grados 2-4 fue superior entre los pacientes asignados a LPV que en los asignados a darunavir (el 23 y el 11 frente al 13 y al 3%, respectivamente).

Por último, en el estudio *GEMINI38* (97), en el que se comparaba la eficacia y seguridad de saquinavir/r (SQV/r) con LPV/r, ambos en combinación con emtricitabina/tenofovir, se comprobó que ambos fármacos provocaban un modesto y comparable incremento de colesterol total, cHDL y cLDL. Sin embargo, el uso de LPV/r se asoció a un mayor incremento de los triglicéridos que SQV/r (55 frente a 14 mg/dl).

El estudio D:A:D fue el primero en demostrar la asociación entre tratamiento antirretroviral y cardiopatía isquémica (98). En un subanálisis reciente se exploró la capacidad del modelo de Framingham de predecir eventos

cardiovasculares al incluir en el mismo la exposición a indinavir, lopinavir/ritonavir y abacavir. El modelo estimó de manera más precisa los eventos cardiovasculares que el modelo de Framingham.

- **Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINAN)**

El hecho de que el uso ITINAN puede provocar incrementos lipídicos en pacientes infectados por el VIH ha sido suficientemente demostrado (99). Sin embargo, los datos procedentes de ensayos clínicos de los fármacos que integran la clase de los ITINAN indican que tienen perfiles metabólicos diferentes y, por ello, su impacto sobre el RCV podría ser también diferente. En el estudio *ACTG 5142*, que comparó la eficacia y seguridad de LPV/r + EFV o cada uno de ellos en combinación con 2 análogos de los nucleósidos en pacientes naïve (100), se observó que el uso de LPV/r no se asoció significativamente con valores mayores de triglicéridos que EFV. Se constató que si bien los pacientes con esquemas terapéuticos sin ITIAN presentaban menor frecuencia de lipoatrofia, estos pacientes presentaron mayores niveles de colesterol y mayor necesidad de tratamientos hipolipemiantes.

- **Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (ITIAN)**

El primer análisis del estudio D:A:D para identificar asociaciones fármaco-específicas de ITIAN con infarto de miocardio, se efectuó con la hipótesis previa de que los ITIAN análogos de la timidina serían los fármacos presuntamente implicados, dadas sus conocidas alteraciones sobre el metabolismo de los

lípidos, la sensibilidad a la insulina y la redistribución de la grasa corporal (101). Sin embargo, los fármacos asociados fueron abacavir (ABC) y didanosina (DDI) (102).

Los hallazgos del D:A:D han sido corroborados por el análisis que la EMEA (*European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*) encargó a la base de datos francesa sobre VIH, así como por los datos del estudio SMART y, más recientemente, por los del estudio STEAL. En cualquier caso, conviene resaltar que si bien los estudios de cohortes no pueden demostrar relaciones de causalidad, es notable el hecho de que 3 estudios de cohortes y 1 ensayo clínico señalen en la dirección de la asociación de ABC e infarto de miocardio. Recientemente, han sido presentadas evidencias acerca del efecto nocivo de ABC sobre el endotelio vascular y de que ABC puede causar hiperagregabilidad plaquetaria (103), mecanismos ambos implicados en la aterogénesis.

1.2.2. MECANISMOS POR LOS QUE EL TARGA AUMENTA EL RIESGO CARDIOVASCULAR

El aumento del RCV asociado a la infección crónica por VIH se ha atribuido, entre otros factores, al efecto deletéreo que estos fármacos ejercen sobre factores de riesgo tradicionales como el metabolismo lipídico o la resistencia a la insulina (4;104). Estas alteraciones pueden presentarse bien de manera aislada o bien formando parte de otras entidades, como el síndrome metabólico o de lipodistrofia.

- **DISLIPEMIA**

El inicio del TARGA, generalmente se asocia a un incremento de los lípidos plasmáticos. En general, e independientemente de la pauta de tratamiento utilizada, el incremento que presentan el colesterol total y el cLDL es mucho mayor que el que presenta el cHDL, lo cual contribuye a mantener e incluso a exacerbar el déficit relativo de cHDL. Los resultados de ensayos clínicos y de estudios en voluntarios sanos adultos han documentado el desarrollo de efectos sobre el metabolismo lipídico de IP, ITIAN e ITINAN. Incluso hay diferencias intraclase en la capacidad de provocar dislipemia. Como familias, los IP inciden preferentemente en la elevación de triglicéridos, lo cual parece ser secundario a un aumento en la síntesis hepática de éstos y a un aumento de algunas lipoproteínas ricas en triglicéridos, como el colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL) (105).

El efecto de los ITINAN podría estar relacionado con un aumento de la síntesis hepática de Apo A-I y de su capacidad para secretar lipoproteínas (106). A diferencia de éstos, los ITIAN parecen tener un efecto indirecto relacionado con el desarrollo de toxicidad mitocondrial.

- **RESISTENCIA A LA INSULINA Y DIABETES MELLITUS**

Las complicaciones del metabolismo hidrocarbonado asociadas al VIH comprenden todo el espectro desde la resistencia a la insulina hasta la diabetes franca. La resistencia a la insulina, además de incrementar por sí misma el RCV (107), se asocia en el paciente con VIH a otros factores de riesgo de

aterosclerosis como la hiperlipidemia y el depósito visceral de grasa (4). La asociación de los IP a los trastornos del metabolismo hidrocarbonado se ha sugerido tanto en estudios transversales (108) como longitudinales (109). Las descripciones iniciales de resistencia a la insulina en pacientes infectados por el VIH en tratamiento con TARGA se realizaron en el contexto del síndrome de lipodistrofia inducido por fármacos, que implica la aparición de resistencia a la insulina.

Un mecanismo posible por el que los IP inducen la aparición de resistencia a la insulina es que los IP inhiban el transportador de insulina al interior de la célula GLUT-4; hipótesis que apoyan varios estudios (110;111). En ellos se demuestra cómo los IP inhiben de forma rápida y específica la actividad del GLUT-4 sin afectar a otros niveles. Otro posible mecanismo sería el aumento de la resistencia insulínica en el hígado.

Tras los resultados obtenidos en un estudio con citometría de flujo en pacientes naïve, con y sin lipoatrofia, infectados por el VIH y tratados, se ha especulado que el factor de necrosis tumoral (TNF) podría jugar su papel como causante de la resistencia a la insulina, ya que se evidenció que el TARGA provoca una disregulación en la homeostasis del TNF y que ello se asocia a un incremento de marcadores aterogénicos en sangre periférica (112).

- LIPODISTROFIA

Este término hace referencia a un grupo heterogéneo de trastornos del tejido adiposo que se caracteriza por una pérdida selectiva de tejido graso en

diferentes zonas del cuerpo. En pacientes infectados por el VIH en tratamiento antirretroviral, esta pérdida de la grasa corporal es más evidente en la cara y las extremidades. Esta entidad no parece estar relacionada con la infección por el VIH *per se* (113). Numerosos estudios han demostrado que el uso de ITIAN es el mayor causante de lipoatrofia periférica (109;114), particularmente d4T. Los ITIAN afectan a la polimerasa gamma y producen una deplección del ADN mitocondrial, este efecto se muestra en adipocitos de pacientes infectados por el VIH en tratamiento con d4T, en el que la deplección de ADN mitocondrial depende de la duración del tratamiento con dicho fármaco (115).

El mecanismo patogénico de la lipoatrofia es extremadamente complejo. Los estudios que relacionan la presencia de esta entidad con la exposición a IP sugieren que éstos pueden producir un importante efecto inhibitor sobre el adipocito, actuando sobre los receptores PPAR-gamma (116). Otros estudios sugieren que los ITIAN y los IP tendrían diversos efectos sobre las distintas líneas celulares del adipocito, con una marcada expresión y secreción de las adipokinas IL-6, TNF- α , e IL-1b75. Los estudios *in vivo* muestran una disminución de la funcionalidad de la mitocondria del adipocito, con una reducción de la transcripción de ADN mitocondrial (117).

- SÍNDROME METABÓLICO

La obesidad, en particular la obesidad abdominal, se asocia con resistencia a la insulina y por tanto a menor consumo periférico de glucosa y ácidos grasos, conduciendo a menudo al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2. La resistencia

a la insulina, la hiperinsulinemia e hiperglucemia asociadas y el aumento de adipocitokinas pueden desembocar también en disfunción endotelial, alteraciones lipídicas, hipertensión arterial e inflamación vascular, favoreciendo el desarrollo de ECV arteriosclerótica (118;119). Un perfil metabólico similar se ha observado en sujetos con obesidad abdominal, que no tienen un exceso de peso corporal total (120;121).

La concurrencia de factores de riesgo metabólicos tanto para diabetes mellitus tipo 2 como para ECV (obesidad abdominal, hiperglucemia, hipertensión) sugirió la denominación de “síndrome metabólico” (122-125).

Los criterios actuales del *Adult Treatment Panel III* para definir el síndrome metabólico son los siguientes (126), debiendo cumplir al menos tres:

- i. obesidad abdominal, definida como la presencia de circunferencia abdominal mayor de 102 cm en varones y 88 cm en mujeres.
- ii. Triglicéridos séricos ≥ 150 mg/dL o tratamiento para la hipertrigliceridemia
- iii. Colesterol cHDL sérico < 40 mg/dL en varones y < 50 mg/dL en mujeres o tratamiento para disminuir el colesterol.
- iv. Presión arterial $\geq 130/85$ mmHg o tratamiento antihipertensivo.
- v. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 100 mg/dL o tratamiento antidiabético.

Con la introducción del TARGA, en especial los IP, se ha observado en los pacientes con VIH un aumento en la frecuencia de síndrome metabólico y

alteraciones en la distribución de la grasa corporal o lipodistrofia. La patogenia del síndrome metabólico asociado al TARGA es compleja debido a que intervienen múltiples factores, como son el efecto directo del TARGA sobre el metabolismo lipídico, la disfunción endotelial y adipocitaria y la activación de citokinas proinflamatorias (127). Un estudio de casos-controles analizó datos bioquímicos en 246 pacientes con infección por VIH y más de 6 meses en TARGA frente a 156 controles emparejados por índice de masa corporal. La prevalencia de síndrome metabólico fue superior en los pacientes con VIH (15,8% vs 3,2%, $p<0,001$) y se relacionó de manera independiente y significativa con la presencia de lipodistrofia, mayor edad, mayor IMC y relación leptina/adiponectina disminuida (128).

Estudios observacionales han apreciado el aumento en la incidencia de síndrome metabólico tras la iniciación de TARGA. En el primero de ellos, la prevalencia de síndrome metabólico aumento del 16 al 25% a las 48 semanas, con una tasa de incidencia de 14/100 pacientes-año (129). En el segundo, la prevalencia fue del 9%, con una tasa de incidencia de 12/100 pacientes-año (130). En pacientes infectados por el VIH en tratamiento con TARGA, el grosor íntima media carotideo, fue significativamente mayor en pacientes con síndrome metabólico (131). El síndrome metabólico en pacientes infectados por el VIH en TARGA representa la máxima expresión de la toxicidad farmacológica sobre el metabolismo lipídico y de la glucosa, con un efecto deletéreo sobre la función tisular del adipocito.

1.3 EFECTOS DE LA COINFECCIÓN POR LOS VIRUS DE LA HEPATITIS SOBRE EL DESARROLLO DE LA ARTERIOSCLEROSIS

Como ya se ha comentado, diversos estudios experimentales y epidemiológicos apoyan el papel de las infecciones en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis (132;133). Algunos investigadores han analizado la relación entre los virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC) y la enfermedad aterosclerótica. Aunque un estudio transversal encontró una asociación entre la antigenemia del virus B y la presencia de placas carotideas en ecografía de alta resolución (134), la mayoría de los estudios no ha encontrado una relación entre la infección persistente por este virus y la presencia de ECV evaluada por el desarrollo de episodios cardiovasculares (135) o de aterosclerosis coronaria medida por coronariografía (136).

Respecto al VHC, su relación con el desarrollo de arteriosclerosis es controvertida. La presencia de infección por VHC evaluada mediante una serología positiva se ha asociado con enfermedad aterosclerótica coronaria y carotidea en algunos estudios (133;137;138), pero no en otros (135;139).

Un análisis retrospectivo de la cohorte de veteranos americana, que incluyó a más de 20.000 pacientes, demostró un aumento del riesgo de infarto de miocardio en pacientes con infección por el VIH coinfectados por VHC respecto a pacientes no coinfectados, que se mantuvo después de ajustar por los FRCV tradicionales (hipertensión arterial, edad, diabetes y tabaco), tanto en la era pre como post-TARGA, aunque en este último caso la diferencia en el riesgo de infarto de miocardio entre monoinfectados y coinfectados no alcanzó la significación estadística (140). Sin embargo, esta asociación con el VHC no se ha encontrado en los análisis de la cohorte

D:A:D, aunque en esta cohorte sí se detectó una asociación entre la coinfección por VHC y el desarrollo de diabetes mellitus (140).

Además, hay otros estudios epidemiológicos que han puesto de manifiesto un mayor riesgo de resistencia insulínica y, a la larga, de diabetes mellitus en pacientes con infección crónica por VHC (141). La resistencia a la insulina es el principal mecanismo involucrado en el desarrollo de síndrome metabólico, que se ha descrito hasta en el 26% de los pacientes con hepatitis C crónica, sobre todo en el genotipo 1 (142). Diferentes mecanismos explican la asociación entre resistencia a la insulina y el VHC; probablemente el triángulo inflamación crónica-esteatosis-resistencia insulínica y sus interrelaciones desempeñen un papel central. La resistencia insulínica se ha implicado como factor causal de esteatosis hepática y fibrosis en pacientes con genotipo 1 del VHC (143). La infección por VHC se acompaña además de una activación persistente de macrófagos e hiperproducción de citokinas proinflamatorias, lo que en presencia de valores elevados de ácidos grasos intrahepatocitarios puede alterar las vías intracelulares del hepatocito e inhibir la señal para la insulina, produciendo resistencia insulínica. La proteína core del VHC puede inhibir directamente a la insulina y aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno, lo que contribuiría a empeorar la resistencia insulínica (144). Por otra parte, la coinfección por el VHC se asocia a un estado protrombótico con activación plaquetaria y disfunción endotelial que pueden aumentar el RCV (145). Además, el tratamiento con interferón se ha asociado con una mejoría en la resistencia insulínica medida por el índice HOMA de función de célula beta pancreática y el índice de sensibilidad a la insulina en pacientes con respuesta viral sostenida (146) y con una mejoría de la esteatosis hepática en pacientes infectados por el genotipo 3 (147).

1.4 EPIDEMIOLOGÍA DE LOS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

CLÁSICOS EN LOS PACIENTES CON VIH

Globalmente, parece que los pacientes infectados por VIH tienen un mayor riesgo de presentar una ECV que los no infectados. Ya hemos visto cómo el TARGA, y en especial los IP, se han relacionado con alteraciones metabólicas que pueden producir un aumento en la morbilidad cardiovascular. Así, parte de la asociación entre infección por VIH y ECV puede explicarse por la aparición de dislipemia, intolerancia a la glucosa o lipodistrofia (3). Independientemente del posible efecto de la infección crónica por el VIH o del TARGA, los FRCV clásicos son frecuentes en la población infectada por VIH. Algunos, como el tabaquismo, son más frecuentes en los pacientes con VIH que en la población general. La prevalencia de los distintos FRCV en los principales estudios realizados se resume en la **tabla 1** (88):

Tabla 1. Prevalencia de los principales factores de riesgo cardiovascular en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Modificado de Carr et al. (88).

	Número de pacientes	Varones (%)	Edad (años)	IMC superior a 30 (%)	Tabaco (%)	HTA (%)	Diabetes (%)	Dislipidemia (%)	Lipodistrofia (%)
DAD ^a	17.852	76	39	3,5	51,5	8,5	2,5	–	25,4
DAD 2007 ^a	23.437	75,9	43	5,2	71,9	23,8	5,4	48,6	–
APROCO ^b	223	81	–	17% superior a 25	56,6	5,2 ^a	2	–	–
Palacios et al. ^c	95	82	40	Media de 23	68	7,3/26 ^b	–	–	–
MACS ^d	5.578	100	32,6	23,9	39,2	5,9/5,9 ^c	–	–	–
	–	–	–	–	–	7,3/8,0 ^d	–	–	–
Gazzaruso et al.	287	70,7	41,1	–	–	34,2	–	–	41,1
APROCO-MU	614	80	63% > 34	–	–	–	6	58,4	62%
Kaiser Permanente ¹	4.159	100	35 a 64	–	18,8	18	7,2	21,5	–
Triant et al.	3.851	70	38	–	–	21,2	11,5	23,3	–
Martínez et al. ²	3.199	73	40	5,8	64,4	22,5	8	62,4	36,9
Jericó et al. ²	710	72	42	Media de 23,4	69,5	13,1	4,3	–	36,6

APROCO: Antiprotéasas Cohorte; DAD: Data Collection of Adverse effects of anti-HIV Drugs; HTA: hipertensión arterial; IMC: índice de masa corporal; MACS: Multicenter AIDS Cohort Study.

^a Definición HTA: 160/95 mmHg.

^b 7,3% pacientes HTA antes del tratamiento y 26% a las 48 semanas.

^c Presión arterial sistólica (PAS)/presión arterial diastólica.

^d Prevalencia al inicio de la presión arterial sistólica (PAS) y de la presión arterial diastólica (PAD): 5,9 y 5,9%, respectivamente; y después del seguimiento, la PAS y la PAD: 7,3 y 8,0%, respectivamente.

1.5 ATEROSCLEROSIS SUBCLÍNICA

Numerosos estudios observacionales han investigado la asociación de la presencia de VIH, la exposición a los IP y la aterosclerosis (23;25;90;148-167). Sin embargo, la asociación entre el propio VIH y la aterosclerosis sigue por definir debido a los resultados discrepantes de estos estudios y la probabilidad de incurrir en sesgos que presentan. Diferentes investigadores han tratado de aclarar la relación potencial entre el VIH y la carga aterosclerótica a través de estudios transversales utilizando ecografía de alta frecuencia para la medición del grosor íntima-media carotideo (GIMc) o la presencia de placa aterosclerótica y tomografía computerizada (TC) coronaria para la cuantificación del calcio coronario (CAC). Tanto el GIMc, la presencia de placa, como el CAC son medidas directas y validadas de la carga aterosclerótica y predicen el riesgo de eventos cardiovasculares futuros (168;169).

2. VALORACIÓN NO INVASIVA DEL RIESGO CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICO

La enfermedad aterosclerótica es frecuente en la población general, afectando a la mayoría de los adultos, especialmente a partir de los 60 años de edad. Sus manifestaciones clínicas incluyen la cardiopatía isquémica (infarto de miocardio, angina de pecho, insuficiencia cardíaca y muerte de causa coronaria); enfermedad cerebrovascular (ictus y accidente isquémico transitorio) y enfermedad arterial periférica (claudicación intermitente e isquemia arterial de extremidad) (170;171).

La presencia de aterosclerosis en cualquiera de estos territorios aumenta significativamente la probabilidad de enfermedad en cualquier otro territorio vascular. En el comunicado del *National Cholesterol Education Program* en 2002 la presencia de enfermedad aterosclerótica no coronaria fue considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de eventos cardiovasculares equivalente a la presencia de cardiopatía isquémica manifiesta (172). Igualmente, la presencia de diabetes mellitus fue considerada un factor de riesgo equivalente a la presencia de cardiopatía isquémica en este comunicado.

Dado que el desarrollo de lesiones ateroscleróticas es un proceso lento, la medición de la actividad aterosclerótica es importante para la detección precoz de la ECV. Los marcadores surrogados obtenidos de forma no invasiva pueden mejorar la estratificación pronóstica de los pacientes VIH con FRCV y ayudar a entender alguno de los temas pendientes sobre el RCV en la infección por VIH (150).

Numerosos estudios observacionales han investigado la asociación de la presencia de VIH, la exposición a los inhibidores de proteasa y la aterosclerosis

(23;25;90;148;149;151-167). Sin embargo, la asociación entre el VIH y la aterosclerosis sigue por definir debido a los resultados discrepantes de estos estudios y la probabilidad de incurrir en sesgos que presentan estos trabajos.

Los marcadores de ECVs son importantes herramientas para el estudio y la progresión de la aterosclerosis precoz y la eficacia del tratamiento. La identificación de la enfermedad vascular subclínica ofrece el beneficio de un manejo intensivo de los factores de riesgo antes de la existencia de enfermedad clínica. Existen diferentes maneras de identificar a los pacientes con alto riesgo de presentar eventos cardiovasculares futuros.

2.1. PREDICCIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR MEDIANTE MODELOS DE RIESGO MULTIVARIADOS

Se han desarrollado diferentes herramientas matemáticas que permiten estimar el riesgo de presentar eventos cardiovasculares en sujetos aparentemente sanos, a través de la ponderación de múltiples variables. Según la escala de medida del RCV se puede hablar de métodos cuantitativos, que asignan un número concreto al riesgo (p. ej. 10%), y cualitativos, que realizan una estimación aproximada o categórica del riesgo (p. ej. riesgo moderado). Entre los métodos cualitativos, destacan las guías de la Organización Mundial de la Salud, la de las sociedades europeas de hipertensión y cardiología y la de la Sociedad española de Cardiología, que valoran el RCV total a los diez años, con la limitación de que están orientadas exclusivamente al paciente hipertenso (173).

Los diferentes modelos cuantitativos difieren en que cada uno otorga un peso diferente a cada factor de riesgo, y predicen el RCV durante los diez años siguientes (174).

Existen otros modelos de riesgo multivariados con diferentes características. Los modelos mejor estudiados son el Framingham y el SCORE. Existen muchos otros modelos, como el algoritmo QRISK2, que se desarrolló para predecir el RCV en pacientes de diferentes grupos étnicos residentes en Inglaterra y Gales (175;176), demostrando predecir de manera más precisa los eventos cardiovasculares en esta población que el modelo de Framingham. El modelo de Reynolds fue desarrollado

sobre una cohorte de unos 10.000 varones norteamericanos sanos sin diabetes; con las mismas variables que en el modelo Framingham, pero añadiendo el valor de la PCR y el antecedente familiar de cardiopatía isquémica precoz (177). Otros modelos de predicción del RCV, de uso menos extendido son el PROCAM (178), las tablas de Sheffield (179), INDANA (180) y las tablas de riesgo de las sociedades británicas (UKPDS) (181;182).

2.1.1. Modelo de Framingham

Este modelo fue publicado en 1998 (183) y modificado posteriormente por el panel de expertos ATPIII (172). Incorpora las variables edad, sexo, colesterol cLDL, colesterol cHDL, colesterol total, tabaquismo y tensión arterial (tratada y no tratada). Predice el riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica (angina, infarto de miocardio o muerte) en los siguientes 10 años. Ha sido validado en estudios de cohortes, comprobándose que predice adecuadamente los eventos cardiovasculares en hombres y mujeres de raza negra y blanca (181).

Este modelo no incluía inicialmente todas las posibles consecuencias de la aterosclerosis, como son el ictus, el accidente isquémico transitorio, la insuficiencia cardíaca o la claudicación intermitente. Estos eventos sí han sido incluidos en el nuevo modelo de RCV general de Framingham en 2008 (182).

Sin embargo, diferentes estudios han sugerido que el modelo de Framingham sobreestima o subestima el RCV en otras poblaciones como los varones japoneses-americanos e hispánicos, mujeres estadounidenses nativas, europeos y asiáticos, así como en los pacientes mayores de 85 años (31;178;182;184-187). No queda claro si estas diferencias son reales o se deben

a diferencias en los métodos de investigación y a los intervalos de tiempo estudiados.

Marrugat et al. han adaptado la ecuación de Framingham a la población española, en la que se ha observado un número de eventos coronarios inferior al esperado según el grado de exposición a FRCV (188), y cuya mortalidad por enfermedad coronaria es de las más bajas del mundo (189). Se trata del modelo Framingham-REGICOR (190), en el que se ha sustituido la prevalencia de FRCV y la tasa de incidencia de eventos coronarios de la población de Framingham por la de la población de Gerona, utilizando los datos del registro poblacional REGICOR.

Por otra parte, se ha demostrado que existe correlación entre el RCV calculado mediante la ecuación de Framingham y el GIMc (191).

En los pacientes con VIH, el estudio D:A:D ha investigado prospectivamente la capacidad de la ecuación de Framingham de predecir eventos cardiovasculares, concluyendo que esta ecuación permite estimar los episodios cardiovasculares en los pacientes con VIH; sin embargo, parece subestimarlos en pacientes en TARGA y podría sobreestimarlos en aquellos que no lo están recibiendo (192).

Merece especial mención el estudio reciente de Parra et al. en el que se ha investigado en 187 pacientes con infección por VIH la concordancia entre el RCV predicho según el modelo de Framingham y la presencia de aterosclerosis subclínica medida a través del GIMc, investigando además la asociación entre biomarcadores de inflamación y oxidación con el GIMc (193). Una gran proporción de pacientes con RCV bajo según el modelo de Framingham (56.4%)

presentaron aterosclerosis subclínica significativa, que sí se relacionó tras el análisis multivariante con la edad, el índice de masa corporal, la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) y las partículas cLDL-oxidadas. Los autores concluyeron que el modelo de Framingham subestima la presencia de aterosclerosis subclínica en los pacientes con VIH, y que el exceso de RCV puede deberse, en parte, a la situación de inflamación y estrés oxidativo crónicos a los que están expuestos los pacientes con VIH.

Otros modelos, como el SCORE o el QRISK2 han sido desarrollados, en un intento por alcanzar mayor precisión predictiva en individuos europeos (175;176;187).

2.1.2. Modelo SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation)

Para la realización de este modelo se incluyeron datos de más de 200.000 pacientes extraídos de estudios de cohortes en 12 países europeos (178;179;186;194). Las variables que incluye son edad, sexo, presión arterial sistólica, colesterol total, colesterol cHDL y tabaquismo. El seguimiento de los pacientes fue de una media de 13 años, y la variable resultado del estudio fue la muerte de origen cardiovascular. Un aspecto esencial del modelo SCORE es que existe una versión para las regiones de riesgo alto (Noruega, Finlandia, Dinamarca) y otra para los de riesgo bajo (España, Bélgica, Italia). El valor predictivo del SCORE fue alto en cada cohorte integrante del estudio.

El modelo SCORE difiere del de Framingham (y de otros) en dos aspectos fundamentales: el riesgo se considera elevado cuando es superior al 5% a los 10

años de padecer cualquier evento aterosclerótico fatal, como ictus o rotura de aneurisma abdominal y no solo las muertes relacionadas con cardiopatía isquémica. Las tablas SCORE se han calibrado para la población española, de forma que las siguientes circunstancias implican un aumento del RCV respecto a las tablas originales: manifestaciones de ECV subclínica, diabetes tipo 2, diabetes tipo 1 con microalbuminuria, síndrome metabólico, antecedentes familiares de ECV precoz, hipertrigliceridemia, cHDL bajo, obesidad y niveles elevados de Proteína C Reactiva u homocisteína (195).

Estima, además, solo la mortalidad cardiovascular global, en lugar de cada evento cardiovascular. Las Guías Europeas para la Prevención de la Enfermedad Cardiovascular en la práctica clínica (196) y las guías de la Sociedad Europea de Cardiología (187) recomiendan el uso de este modelo para la predicción del RCV en la población española.

En la población con VIH, este modelo no ha sido estudiado, al igual que la correlación que pueda existir con el GIMc. Dado que la prevalencia de FRCV es mayor en los pacientes con VIH (resistencia insulínica, diabetes mellitus tipo II, hipertrigliceridemia; FRCV no incluidos en el modelo SCORE), además de otros probables factores de riesgo no tradicionales como la propia infección por VIH y los fármacos antirretrovirales, es razonable pensar que este modelo probablemente subestime el RCV en la población con VIH.

El modelo SCORE no ha sido validado en población con infección por VIH, sea mediante estudios prospectivos o mediante el estudio de marcadores surrogados de aterosclerosis como el GIM.

Cabe preguntarse si estos modelos multivariados son aplicables o no a la población con infección por VIH. Por una parte, la mayor parte de estas escalas se basan en 4-6 FRCV, cuando en el origen de la enfermedad vascular se han reconocido más de 200 factores (197). Esto parece especialmente relevante en los pacientes con VIH, en los que existen factores añadidos, como la inflamación crónica, la propia acción del virus y el TARGA, capaces de promover el proceso aterosclerótico. Por otra parte, más del 60% de los pacientes que sufren un infarto de miocardio a edades jóvenes, presentan una valoración del riesgo como de intermedio-bajo por estas escalas (198). Este hecho es especialmente relevante también en la población con VIH, ya que en general se trata de individuos jóvenes.

Es necesario conocer si los modelos SCORE y Framingham predicen adecuadamente el RCV en nuestra población de pacientes con VIH, así como averiguar si el uso de pruebas no invasivas para la predicción del RCV juega algún papel en estos pacientes.

2.2. PREDICCIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR MEDIANTE TÉCNICAS NO INVASIVAS

2.2.1. GROSOR ÍNTIMA-MEDIA CAROTIDEO

El marcador precoz de ECV más usado por su simplicidad y su excelente correlación con la aterosclerosis subclínica es la medición, mediante ecografía de alta resolución en modo B, del grosor íntima-media carotideo (GIMc). Se trata de un marcador surrogado de RCV que se ha estudiado extensivamente en numerosos ensayos clínicos (199), empezando por la descripción de la técnica por Pignoli et al. en 1986 (200) y siendo objeto en la actualidad de la mayor parte de las publicaciones en el campo de la imagen y la arteriosclerosis. La valoración ecográfica de la aterosclerosis se correlaciona bien con la histología de la placa aterosclerótica (201) y un GIMc aumentado se correlaciona positivamente con la presencia de diferentes FRCV (199;201-211) y con la presencia de aterosclerosis avanzada, incluyendo la cardiopatía isquémica (199;201;207;212-215). En un metanálisis reciente, Lorenz et al. (213) revisaron diferentes estudios de GIMc (169;203;204;206;207;209;210;216;217), con datos de más de 37000 sujetos, concluyendo que por cada incremento de 0,1 mm en el GIMc existe un aumento del riesgo de infarto de miocardio del 10-15%, y del riesgo de ictus del 13-15%. Por tanto, el GIMc constituye un marcador surrogado de aterosclerosis potente y no invasivo. Se trata de una técnica validada para la estimación de la aterosclerosis, y constituye el único método no invasivo recomendado por la

American Heart Association para la estimación del riesgo de desarrollo de ECV en la actualidad, además de ser recomendado por la *FDA* (US Food and Drug Administration) y por la *EMA* (*European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*). El GIMc ha demostrado ser un predictor de enfermedad cardiovascular, y valores por encima de 1 mm se han asociado con aumento de cardiopatía isquémica (201). Hoy por hoy, representa la técnica preferida para la valoración no invasiva de la aterosclerosis en la mayor parte de los ensayos clínicos y estudios observacionales.

Los resultados del metanálisis llevado a cabo por Lorenz et al. (213) apoyan el uso del GIMc para la predicción del infarto de miocardio o del ictus en la población general. Sin embargo, hay que señalar que la mayor parte de los ensayos incluidos en el meta-análisis presentaba gran heterogeneidad metodológica (218).

Existen distintas formas de medir el GIMc, lo que ha ocasionado una gran divergencia de resultados en los numerosos estudios realizados. La falta de un protocolo aceptado para la determinación del GIMc llevó en 2004 a establecer los Criterios de Mannheim, en un intento por unificar los criterios para distinguir entre la formación incipiente de una placa aterosclerótica y el engrosamiento del GIMc y para estandarizar la metodología de la medición del GIMc (219;220). Éste ha sido un paso determinante para la investigación en aterosclerosis subclínica.

En población española, Junyent et al. publicaron en 2005 los resultados del análisis del GIMc en 250 individuos sanos. Globalmente, el resultado del

percentil 75 del GIMc medio en varones y mujeres fue 0,68 mm. Las características epidemiológicas de la población y los valores del GIMc por sexo y franja de edad quedan reflejados en las **tablas 2, 3 y 4** (221).

Tabla 2. Variables clínicas y analíticas en 250 individuos sanos en función del grupo de edad. Tomado de Junyent et al. (220).

Variables	Grupos de edad (años)					p*
	≤ 35	36-45	46-55	56-65	> 65	
Varones/mujeres	34/23	24/25	26/31	21/24	20/22	NS
Tabaquismo*	14 (24,6%)	19 (38,8%)	22 (39,3%)	9 (20,5%)	6 (15%)	0,025
Antecedentes familiares ECV*	6 (10,5%)	3 (6,1%)	7 (12,3%)	3 (6,7%)	4 (9,5%)	NS
PAS (mmHg)	112 (10)	117 (14)	123 (17)	126 (13)	130 (13)	< 0,001
PAD (mmHg)	66 (9)	75 (12)	77 (11)	78 (9)	79 (9)	< 0,001
Peso (kg)	68 (11,6)	69 (12,8)	70 (11,1)	69 (11)	71 (10,6)	NS
Altura (cm)	171 (9,1)	165 (8,6)	166 (8,8)	162 (7,3)	160 (8,9)	< 0,001
IMC (kg/m ²)	23,3 (2,3)	25,3 (4,0)	25,2 (3,5)	26,4 (4,3)	27,9 (4,0)	< 0,001
Colesterol total (mg/dl)	188 (29)	196 (31)	210 (31)	215 (28)	210 (26)	< 0,001
cLDL (mg/dl)	116 (26)	125 (27)	136 (23)	137 (25)	134 (22)	< 0,001
cHDL (mg/dl)	56 (16)	55 (14)	57 (15)	59 (14)	58 (14)	NS
Triglicéridos (mg/dl)	85 (31)	90 (37)	87 (35)	95 (39)	99 (34)	NS
cLDL/cHDL	2,2 (0,8)	2,4 (0,8)	2,5 (0,8)	2,5 (0,7)	2,5 (0,9)	NS

Resultados expresados en número (porcentaje) o media (desviación estándar). ECV: enfermedad cardiovascular precoz. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. IMC: índice de masa corporal. NS: no significativo.

Tabla 3. Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media medio y máximo de la carótida común (en milímetros) en función del grupo de edad en varones. Tomado de Junyent et al. (220).

Variables	Grupos de edad (años)					
	≤ 35 (n = 34)	36-45 (n = 24)	46-55 (n = 26)	56-65 (n = 21)	> 65 (n = 20)	Todos (n = 125)
GIM medio						
Media (DE)	0,50 (0,09)	0,57 (0,11)	0,62 (0,12)	0,65 (0,13)	0,73 (0,13)	0,60 (0,14)
Percentil 25	0,43	0,48	0,55	0,56	0,64	0,50
Percentil 50	0,50	0,57	0,61	0,63	0,74	0,58
Percentil 75	0,55	0,68	0,74	0,73	0,89	0,68
GIM máximo						
Media (DE)	0,59 (0,13)	0,66 (0,14)	0,76 (0,20)	0,76 (0,17)	0,89 (0,19)	0,72 (0,19)
Percentil 25	0,50	0,53	0,60	0,63	0,70	0,60
Percentil 50	0,60	0,60	0,72	0,70	0,92	0,70
Percentil 75	0,70	0,81	0,93	0,90	1,10	0,80

DE: desviación estándar.

Tabla 4. Percentiles 25, 50 y 75 del grosor íntima-media medio y máximo de la carótida común (en milímetros) en función del grupo de edad en mujeres. DE: desviación estándar. Tomado de Junyent et al. (220).

Variables	Grupos de edad (años)					
	≤ 35 (n = 34)	36-45 (n = 24)	46-55 (n = 26)	56-65 (n = 21)	> 65 (n = 20)	Todos (n = 125)
GIM medio						
Media (DE)	0,41 (0,10)	0,47 (0,13)	0,59 (0,15)	0,62 (0,11)	0,67 (0,14)	0,55 (0,16)
Percentil 25	0,34	0,38	0,47	0,54	0,59	0,45
Percentil 50	0,41	0,48	0,59	0,60	0,65	0,55
Percentil 75	0,53	0,58	0,70	0,69	0,82	0,64
GIM máximo						
Media (DE)	0,50 (0,11)	0,54 (0,14)	0,68 (0,18)	0,73 (0,14)	0,84 (0,17)	0,66 (0,19)
Percentil 25	0,40	0,40	0,52	0,63	0,70	0,50
Percentil 50	0,50	0,53	0,70	0,70	0,82	0,60
Percentil 75	0,60	0,60	0,80	0,84	1,02	0,80

GROSOR ÍNTIMA-MEDIA CAROTIDEO EN POBLACIÓN CON VIH

Sin embargo, los estudios de aterosclerosis subclínica en pacientes con VIH han arrojado resultados dispares (25;90;148;149;151-162;164-167;222;223). Esto se puede explicar por diferentes razones. En primer lugar, se sabe que los pacientes con VIH presentan mayor prevalencia de FRCV clásicos (224). Los estudios realizados hasta el momento, no guardan uniformidad en cuanto al emparejamiento por factores de confusión. Por ejemplo, de los estudios más relevantes hasta el momento, tres no controlaron los factores de confusión (156;165;223), y la mayoría controlaba solo por edad y al menos otro factor de confusión relevante. Además existe poca uniformidad en la definición de exposición a cada grupo de tratamiento antirretroviral, problema difícil de superar en estos pacientes por la frecuente superposición de grupos terapéuticos y frecuentes cambios de tratamiento.

En segundo lugar, existen problemas metodológicos; los estudios difieren en las técnicas utilizadas para la medición del GIMc y en el lugar elegido (bifurcación carotídea, carótida interna o externa). En ningún estudio se define la presencia de placa según los criterios de Mannheim (156;219;220;223) como una estructura focal que protruye en la luz arterial al menos 0,5 mm o el 50% del valor del GIMc circundante. Por todo ello, la reproducibilidad en estos estudios es baja.

En tercer lugar, se ha visto que existen sesgos de publicación en estos estudios, y que los estudios de menor tamaño muestral tienen mayores probabilidades de concluir que los pacientes con infección por VIH presentan mayor GIMc.

Hulten et al. han llevado a cabo recientemente un metanálisis de los estudios observacionales que investiga la presencia aterosclerosis subclínica mediante ecografía carotídea o TC coronario en los pacientes con VIH (225). Se analizaron los datos de 6 estudios transversales, 7 de casos y controles y 12 estudios de cohortes, con un total de 5456 sujetos con infección por VIH y 3600 sujetos VIH-negativos. Concluyeron que la media del GIMc es 0,04 mm mayor entre sujetos VIH-positivos que entre los VIH-negativos, y que existe una mayor prevalencia, no significativa, de placa carotídea, no hallando diferencias en lo que respecta al CAC. Sin embargo, la exclusión del análisis de un estudio con resultados extremos (164), otorgaría al GIMc mucha mayor significación, con una odds ratio de 1,65 para la presencia de VIH como factor de riesgo, y 1,93 para la exposición a IP. Resulta interesante señalar que si bien se encuentran diferencias en cuanto al GIMc y la presencia de placa, esto no ocurre con el CAC en el TC coronario. Esta discrepancia merece toda la atención, ya que el CAC parece ser un mejor predictor de cardiopatía isquémica que el GIMc en población general (168). Sin embargo, estos resultados deben ponerse en el contexto del grupo de edad estudiado. El GIMc puede identificar la aterosclerosis subclínica más precozmente que el calcio coronario cuantificado por TC. Se ha sugerido que el CAC es un hallazgo tardío en proceso aterosclerótico. Estos pacientes representan una población joven (media de edad 45 años) (226), y por tanto, es de esperar que la gran mayoría de los pacientes en este grupo de edad presente bajo CAC, independientemente del perfil de RCV. No obstante, la diferencia encontrada en este metanálisis de 0,04 mm en el GIMc es de significado pronóstico incierto. Por ejemplo, una

diferencia de esta magnitud en el GIMc no modificaría el cuartil (25%, 50%, 75%) en que pasarían a encontrarse los pacientes, comparando con los valores de referencia publicados (227-229).

De todo lo anterior se deduce que, si bien los estudios de cohortes muestran un aumento de la frecuencia de cardiopatía isquémica en los pacientes con VIH, tanto la infección por VIH como la exposición a IP no parecen constituir a nivel poblacional fuertes factores de riesgo independientes para el desarrollo de aterosclerosis subclínica, valorada por GIMc o CAC. GIMc y CAC son buenos predictores de eventos cardiovasculares en población sin el VIH (168). Una posible explicación a esta discrepancia entre los estudios de cohortes de eventos clínicos y los estudios de imagen es que el exceso de infartos de miocardio en la población con VIH sea un hallazgo espúreo ocasionado por la dificultad para controlar los factores de confusión y la dificultad de analizar la exposición a fármacos por el frecuente solapamiento de los antirretrovirales. No obstante, los sujetos con VIH pueden presentar un aumento del riesgo de padecer eventos cardiovasculares a través de mecanismos no enteramente explicables por cambios en el GIMc o en el CAC ya comentados, como son el aumento de la agregabilidad plaquetaria, la inhibición de la fibrinólisis, la disfunción endotelial o la arteritis mediada por la infiltración endotelial del VIH o por la coinfección con otros virus (230;231). Si nos basamos en los estudios poblacionales disponibles, parece que el riesgo de infarto de miocardio en los pacientes infectados por el VIH no se explica enteramente por la aterosclerosis subclínica.

En resumen, con los estudios observacionales efectuados hasta el momento se puede afirmar que la infección por VIH se asocia de forma independiente con un ligero incremento en la aterosclerosis subclínica medida por GIMc, y los estudios más recientes apuntan a que posiblemente también se asocie con una mayor presencia de placa o mayor CAC. El tratamiento con IP frente a al tratamiento sin IP, muestra una tendencia no significativa hacia mayor GIMc y presencia de placa, pero no CAC.

2.2.2. ONDA ARTERIAL DE PULSO Y RIGIDEZ ARTERIAL

El envejecimiento se asocia con cambios funcionales y estructurales en la pared arterial, que resultan en una disminución de la distensibilidad vascular y en un aumento de la rigidez arterial (232). Como consecuencia de la rigidez arterial, por un lado aumenta la presión arterial sistólica, provocando una sobrecarga de presión izquierda (233) y subsecuentemente hipertrofia ventricular izquierda; y por otro lado disminuye la presión diastólica, provocando una disminución del flujo coronario (234). La rigidez arterial se puede medir a través de la determinación de la velocidad de la onda arterial de pulso entre dos puntos del árbol arterial, siendo mayor la rigidez arterial a mayor velocidad de la onda de pulso. De la misma manera, los cambios en el diámetro arterial durante las distintas fases del ciclo cardiaco, ajustados por la presión arterial en ese momento, constituyen una forma de medir la distensibilidad arterial. Diferentes estudios han demostrado que la velocidad de la onda de pulso en la aorta y la distensibilidad arterial en la carótida son predictores de eventos

cardiovasculares en sujetos hipertensos (235;236), en ancianos hospitalizados (237) y en pacientes con insuficiencia renal crónica en fase terminal (235;238). En población sana, la velocidad de la onda arterial de pulso ha demostrado ser un predictor independiente de cardiopatía isquémica e ictus (235-237;239). También se ha visto que se correlaciona positivamente con biomarcadores de RCV como la PCR y el BNP (240).

ESTUDIO DE LA ONDA ARTERIAL DE PULSO EN VIH

Es posible examinar los efectos vasculares del VIH a través de la medición de manera no invasiva de las ondas de pulso a nivel de la arteria radial para valorar la elasticidad arterial en pequeños y grandes vasos. Un estudio comparó la rigidez arterial mediante esta técnica en 32 pacientes con VIH naïve y 30 sujetos VIH negativos (77). Tras ajustar por FRCV, incluyendo el RCV a los 10 años según la ecuación de Framingham, aquellos con infección por VIH tuvieron de forma significativa una menor elasticidad tanto en pequeñas como en grandes arterias respecto al grupo de pacientes seronegativos.

2.2.3. MEDICIÓN DEL CALCIO CORONARIO

La detección mediante TC del calcio arterial coronario (CAC) fue ya demostrada in vivo mediante radioscopia en la década de los 50 (241), y posteriormente se demostró la relación entre la presencia de CAC y el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares (242). La forma más extendida y de mayor valor pronóstico de determinar el CAC es a través del score Agatston (243). El CAC valorado

mediante esta técnica es altamente sensible para la detección de estenosis angiográficas de al menos el 50%, pero tan solo moderadamente específico, especialmente en sujetos mayores de 60 años (241;244-247). En una revisión de 16 estudios, la sensibilidad y especificidad del TC coronario fue del 91% y 49% respectivamente (248). Sin embargo, la ausencia de CAC es altamente predictiva de ausencia de estenosis coronarias (245;249).

El estudio más amplio al respecto en VIH, efectuado por investigadores de la cohorte MACS (155), ha comparado tanto la prevalencia como la intensidad del CAC entre varones infectados por el VIH nunca tratados previamente ($n = 84$), infectados por el VIH que recibían TARGA ($n=531$) y VIH-negativos ($n=332$). Tras ajustar por las variables demográficas y los distintos FRCV, la prevalencia de CAC fue ligeramente mayor entre los pacientes con infección por el VIH, tanto naïve como los que realizaban TARGA, que en los individuos del grupo control. Por el contrario, la intensidad del CAC fue significativamente menor en los pacientes que habían realizado TARGA durante más de 8 años que en los individuos VIH-negativos, circunstancia que los autores achacaron a la elevada frecuencia (51%) con que aquellos realizaban terapia hipolipemiente.

Recientemente, Lo et al. han evaluado prospectivamente la presencia de aterosclerosis subclínica mediante CAC coronario en 78 pacientes con VIH, frente a 32 sujetos VIH negativos, emparejando por riesgo según la ecuación de Framingham, historia familiar de cardiopatía isquémica y tabaquismo (248). Los sujetos con VIH presentaron mayor prevalencia de aterosclerosis coronaria, mayor volumen de placa coronaria y mayor prevalencia de Score de Agatston

mayor de 0. Además, la duración de la infección por VIH se correlacionó significativamente con la duración de la infección por VIH.

Pese a que el CAC es otro marcador precoz de aterosclerosis subclínica, se ha usado sin duda con menor frecuencia que la medición del GIMc, debido a su mayor coste y complejidad.

2.2.4. OTRAS TÉCNICAS

Existen otros métodos no invasivos de valoración del RCV que han sido estudiados menos extensamente en la población de individuos con infección por VIH.

El índice tobillo-brazo (ITB) es una prueba sencilla, barata, reproducible y útil para la detección de pacientes con RCV alto, incluso en pacientes sin manifestaciones clínicas (250;251). La presencia de un ITB disminuido se relaciona con una mayor incidencia de complicaciones coronarias y cerebrovasculares, y un mayor riesgo de mortalidad, aunque los datos acerca de su aplicabilidad en población VIH-positiva son todavía escasos

La prueba de esfuerzo también ha sido utilizada para detectar la isquemia miocárdica silente; un grupo francés la realizó en pacientes VIH-positivos sin antecedentes de cardiopatía isquémica, observando una prevalencia de isquemia miocárdica silente del 11%, lo que se correlacionó de forma independiente en el análisis multivariante con la edad, el lipoacúmulo y las cifras de colesterol total (252).

Por último, se están investigando nuevas pruebas de imagen en los pacientes con VIH para la valorar el RCV y la disfunción endotelial como la Tomografía de Emisión de Positrones (PET) (253).

2.2.5. PACIENTES CANDIDATOS A MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ATEROSCLEROSIS SUBCLÍNICA

Cabe preguntarse en qué pacientes es más útil la realización de pruebas no invasivas para la detección de aterosclerosis subclínica. Parece ser que en los pacientes de riesgo intermedio, calculado según los modelos cuantitativos, la realización de un test no invasivo podría reclasificar el RCV y aportar información sobre la carga aterosclerótica (254). La *AHA Prevention V* sugiere también que los pacientes con RCV intermedio podrían ser candidatos a pruebas no invasivas: GIMc y calcio coronario (255).

2.3. RIESGO CARDIOVASCULAR Y BIOMARCADORES SÉRICOS

Las guías para la valoración del riesgo cardiovascular se centran esencialmente en los FRCV establecidos (172). Si bien se conoce que las herramientas basadas en estos FRCV, como las tablas de Framingham o SCORE, tienen un gran número de limitaciones cuando se intentan trasladar a la práctica clínica. Predicen el riesgo relativamente bien en grupos, pero no necesariamente en individuos, y subestiman el riesgo a largo plazo en las personas más jóvenes (256), está resultando sorprendentemente complejo superar estos modelos basados en FRCV establecidos. De las muchas estrategias propuestas para mejorar la estratificación del RCV, la determinación de biomarcadores séricos resulta particularmente atractiva, si se compara con las alternativas existentes, anteriormente mencionadas.

Los FRCV establecidos no reflejan *per se* la presencia de daño miocárdico, disfunción ventricular izquierda, insuficiencia renal e inflamación, situaciones clínicas que sí han demostrado asociarse con incremento de RCV y mortalidad. Se han propuesto numerosos biomarcadores con mecanismos relacionados a estas situaciones para la estratificación del RCV; algunos de ellos han demostrado identificar sujetos con RCV aumentado con independencia de los FRCV establecidos.

Sin embargo, típicamente el incremento de riesgo que detectan los niveles elevados de estos biomarcadores es modesto (254), y tan solo se observa una leve mejoría en las medidas tradicionales de detección, que en estadística se expresan en el “estadístico C” o “área bajo la curva ROC” (AUC). En gran medida, el debate actual sobre los nuevos biomarcadores se centra en preguntas como qué valor incremental aportan a las curvas ROC, cuáles son las mejores medidas para valorar esta mejoría en la

estratificación del RCV en programas de cribaje (257;258), y si la determinación de biomarcadores puede reclasificar al paciente individual en categorías de riesgo más bajo o más alto (257;259;260).

Una estrategia propuesta para mejorar las limitaciones de la determinación individual de biomarcadores es la de combinar varios biomarcadores en un algoritmo. Sin embargo, la evaluación más de 3000 participantes de la cohorte de Framingham no arrojó resultados satisfactorios (261). Si bien los sujetos con mayor número de biomarcadores alterados tuvieron un aumento del riesgo de muerte, el incremento en el “estadístico C” sobre el modelo de Framingham fue pequeño. De la misma manera, en otro estudio en más de 5000 sujetos ancianos, el uso de 6 biomarcadores tampoco mejoró la capacidad de predicción de los FRCV establecidos (262). La cohorte de pacientes del estudio *HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation)* (263), formada por más de 3000 sujetos con cardiopatía isquémica conocida, valoró prospectivamente la asociación de 10 biomarcadores con la aparición de ictus, infarto de miocardio o muerte de origen cardiovascular, con un seguimiento de 4,5 años. De todos los biomarcadores evaluados, tan solo el NT-proBNP añadió valor incremental significativo al modelo basado en los FRCV tradicionales, aumentando el área bajo la curva ROC. Por tanto, a pesar de décadas de investigación y de la introducción de numerosos biomarcadores, la predicción del RCV ha progresado solo modestamente.

Sin embargo, el estudio realizado por Zethelius et al. (264) ha arrojado nueva luz sobre la capacidad predictiva de los modelos con múltiples biomarcadores. En este estudio se ha evaluado de manera prospectiva a más de 1100 sujetos varones (edad media 71 años, alrededor de la mitad sin ECV al inicio del estudio) durante un periodo de 10

años, determinándose los valores de troponina I, NT-NT-proBNP, cistatina C y PCR. Tras ajustar por los FRCV, cada uno de estos biomarcadores se asoció con muerte de causa cardiovascular y de todas las causas. Al incorporar la combinación de biomarcadores a un modelo de FRCV establecidos; mejoró de forma significativa la estratificación del riesgo para muerte de causa cardiovascular, que se tradujo en aumento sustancial del AUC.

Se han argumentado varias razones por las que el estudio de Zethelius et al. ha arrojado resultados tan diferentes a los hallados en estudios previos. En primer lugar, los biomarcadores empleados en este estudio son superiores a los utilizados en los estudios anteriores, habiendo incluido tres marcadores que reflejan claramente el daño cardíaco o renal. La cistatina C ha demostrado ser una medida del filtrado glomerular más precisa que la creatinina sérica y se correlaciona de forma lineal con ECV (265). En estudios poblacionales, el NT-proBNP se asocia con numerosas alteraciones cardiovasculares y predice el riesgo de muerte y de eventos cardíacos (266;267). Posiblemente, el marcador más intrigante sea la troponina I, un marcador de daño miocárdico (268) que intuitivamente no sería atractivo para cribaje poblacional debido a la baja prevalencia de niveles aumentados en sujetos sanos. No obstante, cuando se detectan niveles de troponina en la población general, esto se asocia de manera importante con alteraciones del tipo de la hipertrofia ventricular izquierda, disfunción diastólica y FRCV mayores como la insuficiencia renal y la diabetes (269). Las troponinas son altamente específicas de daño miocárdico, y si bien las pruebas diagnósticas actuales no ofrecen una sensibilidad adecuada para el cribaje poblacional, la sensibilidad puede mejorar cuando se combinan las troponinas con otros biomarcadores, como se hace en este estudio. En segundo lugar, en este estudio

se incluyeron pacientes con prevalencia considerable de ECV. Entre las personas con ECV, los FRCV establecidos son predictores de eventos menos potentes que los marcadores de carga aterosclerótica y de función ventricular (254).

De la misma manera, el estudio de Nozaki et al. ha abordado prospectivamente la utilidad de la PCR, el BNP y las micropartículas derivadas del endotelio en sujetos con varios FRCV, consiguiendo mejorar la curva ROC respecto al modelo de Framingham, tanto al incorporar al modelo cada biomarcador individualmente o cuando al hacerlo de forma combinada (AUC: modelo de Framingham solo 0,636, Framingham + BNP 0,695, Framingham + PCR 0,696, Framingham + micropartículas endoteliales 0,682, y Framingham + los tres biomarcadores [BNP, PCR, micropartículas endoteliales] 0,763) (270).

El conocer marcadores de RCV y desarrollar herramientas que permitan identificar a los sujetos que padecen mayor riesgo de sufrir eventos cardiovasculares se presenta como uno de los grandes desafíos clínicos de la infección por VIH en una era en la que, gracias al TARGA, la infección por VIH ha pasado a considerarse una enfermedad crónica, cobrando presencia en la mortalidad de estos pacientes el infarto agudo de miocardio.

2.3.1. MARCADORES DE INFLAMACIÓN

En el proceso aterosclerótico, existen diferentes fuentes de marcadores de inflamación, así como de citokinas que favorecen su producción. Algunos de los marcadores de inflamación más estudiados son de síntesis hepática, como son la PCR, el fibrinógeno y el amiloide sérico A. Su producción es estimulada por

diferentes citokinas, que a su vez provienen de diferentes fuentes. Es importante señalar que la síntesis hepática de proteínas inflamatorias está modulada tanto por factores genéticos como ambientales (271). El mejor ejemplo es la influencia dual que sufre el fibrinógeno, cuyos niveles vienen determinados tanto por polimorfismos en el gen del fibrinógeno como por el tabaquismo (272). Es menos conocido el modo en que los genes afectan la producción de la PCR o el amiloide sérico A.

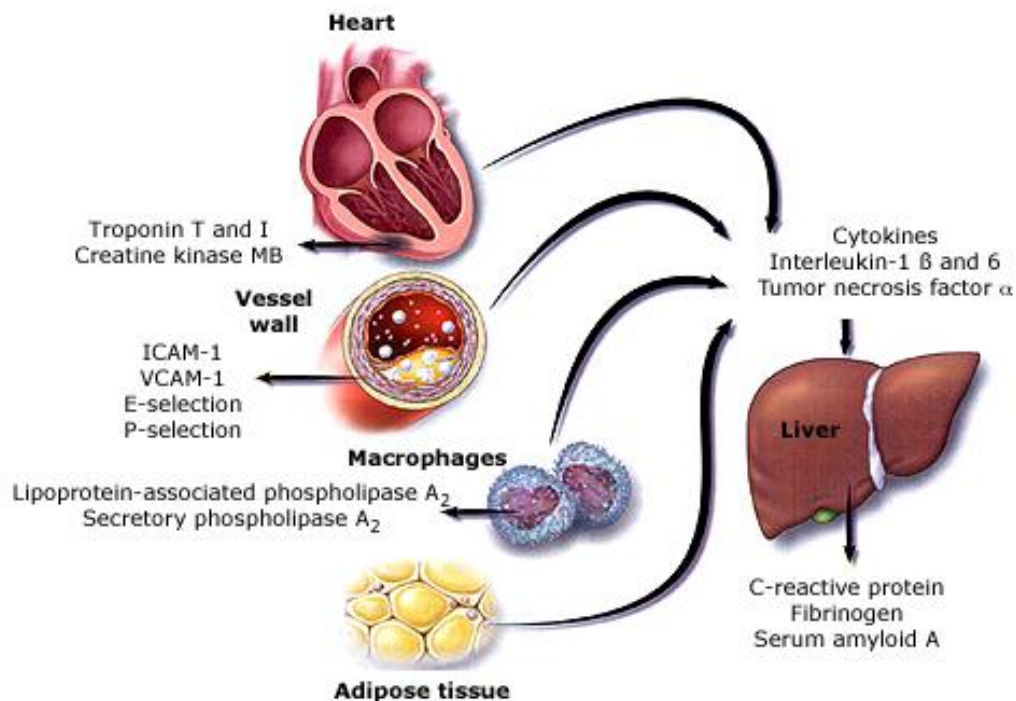


Figura 5. Principales citokinas implicadas en el proceso aterosclerótico. Tomado de Rader et al. (270)

- PROTEÍNA C REACTIVA

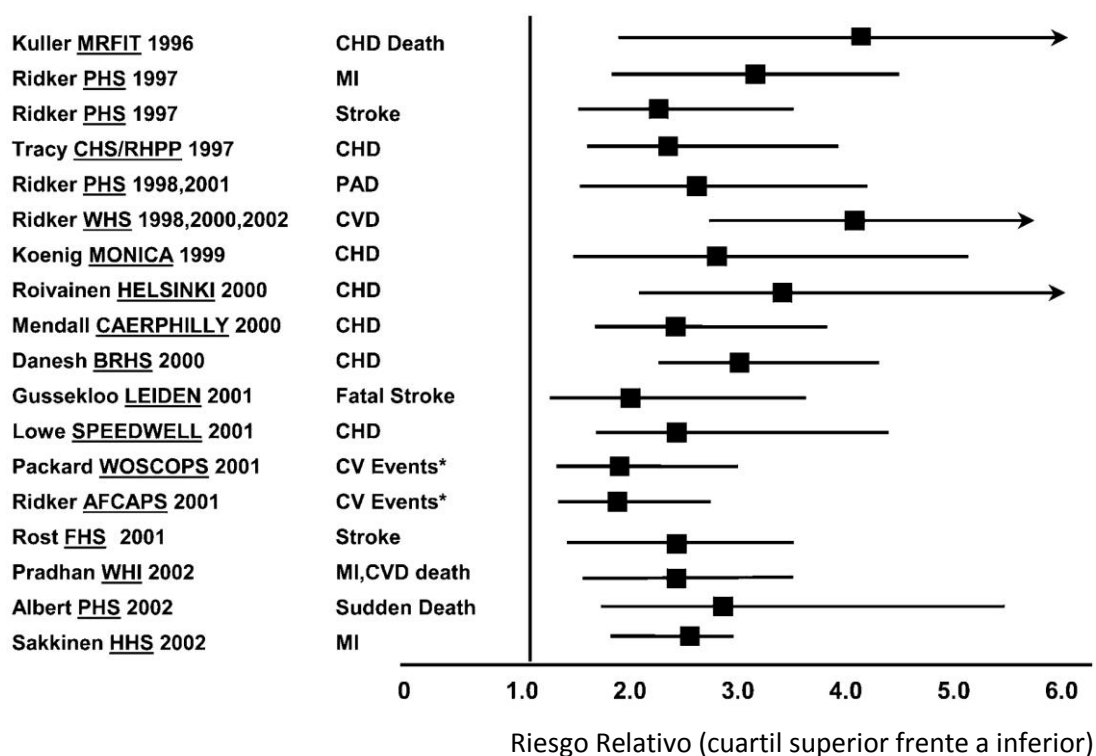
La proteína C reactiva (PCR) está compuesta por 5 subunidades de 23 kDa, y es una pentraxina de síntesis hepática que juega un papel clave en la respuesta inmune innata (273). Su síntesis es estimulada por citokinas como la IL-6 y el

TNF- α (274). La PCR tiene una vida media larga en plasma y actualmente es considerada tanto un mediador como un marcador de enfermedad aterosclerótica. Hasta la fecha, numerosos estudios epidemiológicos llevados a cabo en individuos sin historia previa de ECV demuestran que una medida aislada de la PCR es un fuerte predictor de eventos cardiovasculares futuros. La relación entre los niveles basales de PCR y el RCV futuro ha sido consistente en la mayoría de los estudios, y en la mayor parte de los casos ha demostrado ser un marcador independiente de la edad, el tabaquismo, los niveles de colesterol, la presión arterial y la diabetes mellitus, los FRCV “mayores” evaluados en la práctica clínica diaria. Esta relación está presente tanto en hombres como en mujeres, ancianos y no-ancianos, fumadores y no fumadores, diabéticos y no diabéticos (43;275). La PCR ha sido un predictor de RCV incluso a los 20 años de la determinación inicial (276).

El valor pronóstico de la PCR ha sido estudiado también en pacientes con ECV establecida. En los pacientes con cardiopatía isquémica estable, se ha documentado que sus niveles son el doble en varones con cardiopatía isquémica de base y el cuádruple en los sujetos con un infarto de miocardio comparado con controles. En los pacientes con angina estable, la PCR se asocia con el riesgo de eventos CV futuros, con el grado de calcificación coronaria en la coronariografía (277;278), y con el CAC (279). En los pacientes con cardiopatía isquémica estable, se ha observado una fuerte correlación positiva entre los niveles basales de PCR y el riesgo futuro de eventos cardiovasculares (278;280-285).

La PCR es también un marcador de mal pronóstico al ingreso y antes del alta en los pacientes ingresados por síndrome coronario agudo sin elevación del ST (286-292). Además, tras un infarto de miocardio, la PCR predice el riesgo de recurrencia durante la hospitalización (285) o la mortalidad a los 30 días o a largo plazo (293;294). Es también predictor de eventos cardiovasculares tras pontaje aortocoronario (295), tras angioplastia coronaria percutánea (296), así como predictor de muerte súbita a largo plazo (297).

Tabla 5. Estudios prospectivos relacionando los niveles basales de PCR con el riesgo de sufrir un primer evento cardiovascular (CHD: coronary heart disease; MI: miocardial infarction; PAD: pulmonary artery disease). Tomado de Ridker et al. (43).



Pese a que los algoritmos actuales para la prevención del infarto de miocardio, ictus y muerte de origen cardiovascular recomiendan el uso de estatinas en

pacientes con ECV establecida, diabetes o dislipemia (298;299), la mitad de los infartos de miocardio y de los ictus ocurren en individuos aparentemente sanos y con niveles de cLDL considerados normales. Se ha visto que la determinación de la PCR mejora la clasificación global del riesgo, independientemente de los niveles de cLDL (17;69;300-303).

Por otra parte, la terapia con estatinas reduce los niveles de PCR (304). Asimismo, se ha observado en estudios en personas sanas (305), en pacientes con cardiopatía isquémica estable (283) y en pacientes con síndrome coronario agudo (306-308), que la magnitud del beneficio obtenido con la terapia con estatinas se correlaciona en parte con el grado de disminución del valor de PCR alcanzado.

Las técnicas tradicionales para la determinación de la PCR se desarrollaron para ser empleadas en pacientes con enfermedades infecciosas o inflamatorias. Estos métodos tienen habitualmente un umbral de detección entre 3 y 5 mg/L, que está por encima de la concentración observada en la mayor parte de los individuos sanos. Los métodos de alta sensibilidad para la determinación de los niveles de PCR detectan concentraciones mínimas de 3 mg/L. Estos métodos son necesarios cuando utilizamos la PCR para la estratificación del RCV, que se fundamenta en la detección de niveles de PCR por debajo de 3 mg/L. No obstante, todavía no se ha establecido un punto de corte preciso para la PCR (43;309). Los siguientes puntos de corte han sido sugeridos por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedad de la Asociación Americana del Corazón

(Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association -CDC/AHA):

- Riesgo CV bajo: < 1mg/L
- Riesgo CV intermedio: 1-3 mg/L
- Riesgo CV alto: > 3 mg/L
- Reactante de fase aguda: >10 mg/L

Un tema candente en riesgo cardiovascular es si la PCR es un predictor de aterosclerosis subclínica. Diferentes trabajos han estudiado esta relación a través del análisis de la aterosclerosis subclínica mediante la determinación del CAC por TC y su correlación con la PCR; habiéndose observado una modesta correlación entre el CAC y la PCR, asociación que dejaba de ser estadísticamente significativa tras el análisis multivariado (279;310). En otro estudio en más de 6000 sujetos (311), esta correlación entre PCR y CAC fue significativa tras el análisis multivariado, aunque muy débil (OR 1,1).

Se ha sugerido que si la PCR no se asocia de manera independiente con la carga aterosclerótica determinada mediante TC coronario, la asociación entre PCR y nuevos eventos cardiovasculares debe reflejar un fenómeno fisiopatológico distinto, como son la composición, morfología y estabilidad de las placas ateroscleróticas (279;311).

Por otro lado, al estudiar la correlación entre la PCR y el grado de aterosclerosis subclínica medida por GIMc, los resultados han sido contradictorios. En sujetos sanos, un estudio en Corea en 849 individuos ha analizado también la

asociación entre PCR y el GIMc (312), encontrando que si bien la PCR se correlacionó significativamente con los FRCV convencionales y con el GIMc, esta relación con el GIMc desaparecía tras ajustar por los FRCV. Sin embargo, sí se ha encontrado correlación positiva entre estas dos variables en sujetos diabéticos (313) y pacientes con artritis reumatoide (314).

A pesar de la heterogeneidad encontrada en la literatura, un metanálisis ha analizado la correlación entre el GIMc y diversos biomarcadores de RCV, estableciendo que solo la PCR y el fibrinógeno se asocian significativamente con el GIMc (315), encontrando además que el sexo, la diabetes y la hipercolesterolemia influyen en esta asociación con la PCR.

- FOSFOLIPASA A2 ASOCIADA A LIPOPROTEÍNA (Lp-PLA2)

La lipoproteína (a) –Lp(a) se compone de una lipoproteína de baja densidad cLDL-like unida mediante un puente disulfuro a una apolipoproteína (a) (apoA) altamente glicosilada.

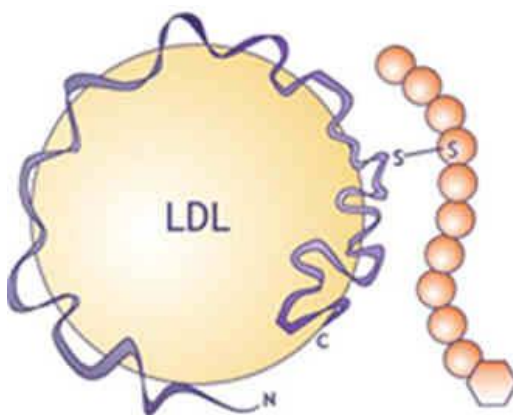


Figura 6. Estructura molecular de la LpPLA2.

Si bien el papel fisiológico de Lp(a) se desconoce en gran medida, se sabe que es un reconocido marcador independiente de RCV, aunque los mecanismos por los que contribuye a la aterosclerosis todavía no han sido establecidos (316-318). Los primeros estudios mostraron que Lp(a) juega un importante papel en la trombogénesis, interfiriendo con numerosos pasos de la vía fibrinolítica (319); con el paso de los años, se le han ido asignando nuevas funciones biológicas, entre ellas la activación de varios tipos celulares que juegan un importante papel en la aterogénesis.

Los efectos biológicos de Lp(a) han sido atribuidos tanto a su porción apoA como al cLDL-like. Entre los componentes de la porción cLDL-like se encuentra la enzima factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, el cual presenta una actividad fosfolipasa A2 y se halla formando complejos con lipoproteínas en el plasma, motivo por el que es conocida como fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína (Lp-PLA2). Los sustratos de Lp-PLA2 son el fosfolípido inflamatorio factor activador de plaquetas y los fosfolípidos con residuos oxidados en la posición *sn*-2 (320). Lp-PLA2 transforma estos fosfolípidos oxidados en partículas cLDL oxidadas en el seno de la íntima arterial. Además, los metabolitos de esta reacción son ácidos grasos libres oxidados y lisofosfatidilcolina, los cuales a su vez estimulan la expresión de moléculas de adhesión y citokinas (321), promoviendo el reclutamiento y la activación de monocitos en la íntima, donde son activados y diferenciados en macrófagos, y en último lugar, en células espumosas apoptóticas. Estos macrófagos activados y células espumosas producen activamente Lp-PLA2, que pasa a la circulación sistémica.

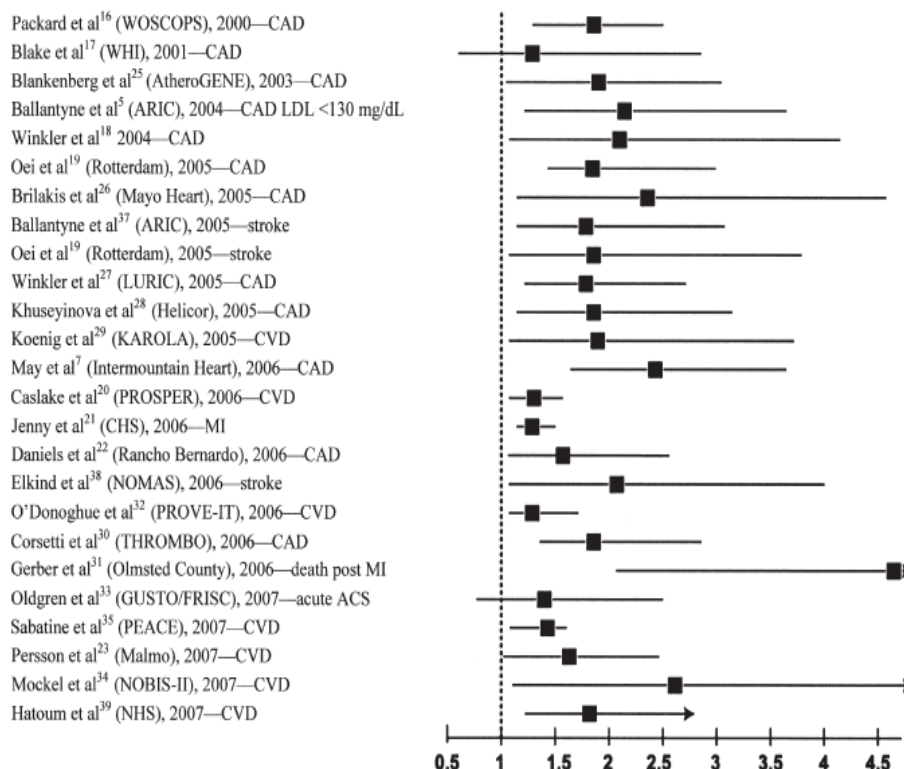
Lavi et al. determinaron las concentraciones de Lp-PLA2 en sangre recogida simultáneamente del ostium coronario y del seno coronario, demostrando que existe un incremento neto en la concentración de Lp-PLA2 tras atravesar la sangre un lecho coronario con placas ateroscleróticas significativas (322); sin embargo, no detectaron este incremento en ausencia de placas coronarias. Este estudio también demostró que la lisofosfatidilcolina producida por la hidrólisis de las cLDL oxidadas mediada por Lp-PLA2 se asocia fuertemente con disfunción arterial coronaria. También se han encontrado niveles altos de Lp-PLA2 en las placas inestables (323) y parece que Lp-PLA2 se libera desde estas placas al torrente sanguíneo. La Lp-PLA2 es, por tanto, una enzima específica de inflamación vascular implicada en la formación de placas de ateroma inestables. La Lp-PLA2 está siendo objeto de numerosos estudios por su capacidad para mejorar la estratificación del RCV en sujetos en los que el mismo es superior al clínicamente estimado según los FRCV tradicionales. Los FRCV tradicionales tan solo explican el 50% del total de episodios coronarios, lo que pone de manifiesto la importancia de desarrollar herramientas diagnósticas para identificar a estos pacientes con RCV oculto (324). Existe buena evidencia científica de que Lp-PLA2 es un marcador de RCV que ofrece nueva información sobre los FRCV tradicionales.

Revisión de la evidencia epidemiológica

En total, más de 25 estudios epidemiológicos han investigado la asociación de Lp-PLA2 con el desarrollo de eventos CV. Han hallado asociación estadísticamente significativa con los niveles aumentados de Lp-PLA2, con la

aparición un primer evento CV (300;325-332), con la recurrencia de eventos CV y con la aparición de ictus (2;325;330;331;333;334). Los niveles de Lp-PLA2 en el cuartil superior condicionan una duplicación del RCV respecto al cuartil inferior (300;325;327;329;335-343); sin embargo existe cierta atenuación de este riesgo en los sujetos ancianos (the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk –PROSPER) (344) y Cardiovascular Health Study (343), en los que el RCV se multiplica solo por 1.5. Estos resultados están ajustados por los FRCV clásicos, y a menudo también por el índice de masa corporal y por otros marcadores de inflamación, como la PCR. A diferencia de lo que sucede con otros marcadores de inflamación, el doble de RCV que se asocia a niveles aumentados de entre niveles elevados de Lp-PLA2 no se atenúa tras ajustar por estos factores (345). En concreto, en el estudio ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities), los sujetos con niveles aumentados tanto de Lp-PLA2 como de PCR presentaron el triple de probabilidad de sufrir un evento coronario, comparado con los sujetos con niveles bajos de ambos biomarcadores (300). En un estudio prospectivo sobre la misma población, la misma comparación arrojó una incidencia 11 veces superior de sufrir un ictus isquémico (329).

Tabla 6. Estudios prospectivos relacionando los niveles basales de LpPLA2 con el riesgo de sufrir un primer evento cardiovascular (CAD: coronary artery disease; CVD: cardiovascular disease; MI: miocardial infarction; ACS: acute coronary syndrome). Tomado de Corson et al. (43).



Un metanálisis mostró que el aumento de RCV detectado por Lp-PLA2 es similar tanto cuando se cuantifica la masa de Lp-PLA2, como cuando se mide su actividad. Diferentes estudios sugieren que Lp-PLA2 informa más sobre la calidad de la placa que sobre la carga aterosclerótica. Por ejemplo, si bien un estudio demostró que Lp-PLA2 se asociaba fuertemente con el CAC, esta asociación no fue significativa en un segundo estudio (346;347). Las

correlaciones entre los niveles de Lp-PLA2 y el grado de estenosis coronaria medido por TC, o con el grado de GIMc medido por ecografía fueron también inconsistentes.

Por otro lado, en pacientes de alto RCV, el incremento de Lp-PLA2 aumenta el área bajo de la curva en los análisis ROC, incluso cuando otros biomarcadores como PCR, cistatina C o NT-proBNP se incluyen en el análisis multivariante (346;348). En el estudio ARIC, que estudió una población de mediana edad aparentemente sana, el incremento de Lp-PLA2 aumentó el área bajo la curva significativamente para el riesgo de eventos coronarios, mientras que ninguno de los otros 18 biomarcadores, incluyendo la PCR, lo consiguió (349).

Si bien el incremento obtenido añadiendo Lp-PLA2 a los FRCV clásicos en el estudio ARIC fue significativo, la magnitud de este efecto es relativamente modesta, lo que apoya la idea de que los biomarcadores de inflamación, incluyendo Lp-PLA2, no deben ser utilizados como pruebas de cribaje en poblaciones de bajo riesgo. Lp-PLA2 predice mejor el riesgo de ictus, incrementando el estadístico C 0.02 puntos sobre los FRCV clásicos combinados con los lípidos y la PCR, debido posiblemente a que el colesterol cLDL no predice el riesgo del primer episodio de ictus (350). Es importante resaltar que cuando Lp-PLA2 y PCR se combinaron como predictores de ictus en el estudio ARIC, el estadístico C presentó un incremento de 0.05 sobre los FRCV clásicos. Estos datos apoyan el hecho de que el uso combinado de estos dos biomarcadores para la estratificación del RCV proporciona información adicional sobre los FRCV clásicos.

En poblaciones de bajo riesgo, es difícil para cualquier marcador de riesgo incrementar el estadístico C generado simplemente por edad y sexo. Por ejemplo, la presión arterial añade 0,03 y el colesterol cLDL 0,01 al estadístico C en la población aparentemente sana del Women's Health Study (349). Sin embargo, este fenómeno cambia en poblaciones de riesgo intermedio y alto, debido a que estos sujetos tienen, por definición, mayor prevalencia de FRCV clásicos, por lo que estos factores tienen un impacto mucho menor en el estadístico C. En consecuencia, en las poblaciones de riesgo intermedio-alto un biomarcador de inflamación podría jugar un papel más importante en la discriminación del RCV. Este hecho se halla particularmente respaldado por una revisión del ensayo ARIC y el riesgo de ictus, donde el uso de Lp-PLA2 y PCR juntos reclasificó el grupo de riesgo a un 37% de personas en el grupo de riesgo intermedio, pero no reclasificó significativamente a las personas en la categoría de bajo riesgo (351).

Lp-PLA2 parece ser un marcador altamente específico de inflamación vascular, por lo que no resulta afectado por procesos infecciosos comunes o por cuadros inflamatorios como la artritis, y al igual que los lípidos, presenta poca variabilidad biológica (351). La baja fluctuación biológica hace posible el uso de una sola determinación para la toma de decisiones clínicas y permite además a los clínicos su monitorización en el tiempo (352).

Finalmente, una característica relativamente única de Lp-PLA2 es su independencia del IMC y de la resistencia insulínica. En cerca de una docena de estudios, en los que se incluyó el IMC junto a los FRCV clásicos, Lp-PLA2

persistió como un predictor de RCV estadísticamente significativo. A diferencia de los marcadores de inflamación, que son de síntesis hepática en respuesta, entre otras, a adipocitokinas producidas por el tejido adiposo, Lp-PLA2 se sintetiza por macrófagos y células espumosas en la placa aterosclerótica (353). En dos estudios epidemiológicos prospectivos, el hecho de presentar síndrome metabólico según los criterios de la ATPIII y las concentraciones de Lp-PLA2 mayores de la mediana fueron, además de independientes mutuamente, predictores aditivos de eventos CV (352). De la misma forma, en el *Malmö Diet and Cancer Study*, 4480 sujetos sin diabetes fueron seguidos durante 10 años, durante los cuales presentaron 261 eventos CV. Los niveles de Lp-PLA2 y la presencia de síndrome metabólico fueron también predictores independientes y aditivos de RCV.

Punto de corte para Lp-PLA2

Un biomarcador debe tener un punto de corte establecido para poder convertirse en una herramienta clínica eficaz. En 2006, un panel nacional de consenso recomendó un punto de corte de concentraciones de masa de Lp-PLA2 para optimizar la detección de los pacientes de alto riesgo (352). Se observó que existe un “umbral de riesgo”, aumentando abruptamente el RCV por encima de concentraciones de masa de Lp-PLA2 por encima de 200 ng/mL. Desde esta recomendación de punto de corte inicial, dos estudios prospectivos han examinado y confirmado que el RCV parece ser bajo con niveles de Lp-PLA2 <200 ng/mL, y que el riesgo es elevado por encima de 235 ng/mL (337;340).

Basándose en estos resultados, varios laboratorios comerciales recomiendan que niveles <200 ng/mL sean considerados bajos, 200-235 ng/mL intermedios y >235 ng/mL elevados.

En resumen, la determinación de Lp-PLA2 parece ser de utilidad junto a los FRCV clásicos en poblaciones de RCV intermedio y alto. Los sujetos con niveles elevados de Lp-PLA2 que son reclasificados a alto riesgo se podrían beneficiar de la intensificación de los tratamientos para el descenso de las cLDL, basándose en el conocimiento actual de que los pacientes de alto riesgo se benefician de mayores reducciones en los niveles de cLDL, independientemente de los niveles de cLDL de partida.

- **INTERLEUKINA-6**

La IL-6 juega un rol esencial en la inflamación y en la señalización del daño tisular. En varones, los niveles de IL-6 son predictores de infarto de miocardio en el futuro (37;354); sin embargo, este efecto se atenúa significativamente cuando otros FRCV son tenidos en cuenta (69).

2.3.2. MARCADORES DE ESTRÉS Y DAÑO MIOCÁRDICO

- **BNP y NT-pro-BNP**

El péptido natriurético cerebral (BNP) es una hormona natriurética secretada por las células miocárdicas en respuesta a la sobrecarga de volumen y, posiblemente, al estrés sobre la pared miocárdica. El fragmento N-terminal, NT-pro-BNP, es liberado también al torrente sanguíneo. Tanto el BNP como el NT-pro-BNP séricos se hallan aumentados en pacientes con insuficiencia cardiaca y son predictores de episodios cardiovasculares en individuos asintomáticos sin insuficiencia cardiaca. En sujetos sanos, las concentraciones de BNP y de NT-pro-BNP son similares (aproximadamente 10 pmol/L). Sin embargo, en pacientes con disfunción ventricular izquierda, los niveles séricos de NT-pro-BNP aumentan unas cuatro veces más que los de BNP. El NT-pro-BNP, además, ha demostrado presentar mayor poder pronóstico de mortalidad en pacientes ingresados por insuficiencia cardiaca (355). Wang et al. estudiaron de forma prospectiva el riesgo de muerte por cualquier causa y la aparición de episodios cardiovasculares en una cohorte de sujetos sin insuficiencia cardiaca de 3346 individuos (261). Tras un seguimiento de 5 años, y tras ajustar por FRCV, cada desviación estándar de los niveles séricos de BNP se asoció a un incremento del 27% en el riesgo de muerte, del 28% en el riesgo presentar episodios cardiovasculares y del 77% en la aparición de insuficiencia cardiaca ($p=0,001$).

Resultados similares se obtuvieron con el NT-pro-BNP. Unos niveles de BNP y de NT-pro-BNP por encima del percentil 80 (23,3 pg/mL) se asociaron a un aumento significativo en el riesgo de desarrollar insuficiencia cardiaca (HR 3,1-

5), así como a un aumento menos marcado de la mortalidad por cualquier causa, la aparición de fibrilación auricular, ictus o accidentes isquémicos transitorios.

La infección por VIH se ha asociado con disfunción ventricular izquierda y aterosclerosis acelerada (356). Pocos estudios han analizado las diferencias en los niveles de NT-pro-BNP en los pacientes con infección por VIH respecto a la población sana. Mansoor et al. compararon las diferencias en los niveles de NT-pro-BNP en 454 mujeres con infección por VIH respecto a 200 mujeres sanas (357). Si bien los niveles de NT-pro-BNP fueron significativamente superiores en las mujeres con infección por VIH, tras el análisis multivariante estas diferencias se asociaron solo a factores no relacionados con el VIH, como la anemia, la insuficiencia renal y la coinfección por VHC. Otro estudio comparó los niveles de NT-pro-BNP en 495 sujetos con VIH frente a 1980 donantes de sangre. Los pacientes con VIH presentaron niveles significativamente superiores de NT-pro-BNP en todos los grupos de edad. Sin embargo, los pacientes con VIH se diferenciaron de los donantes en la mayor prevalencia de FRCV: hipertensión arterial, diabetes mellitus y tabaquismo, por lo que este aumento de los niveles de NT-pro-BNP en la población con infección por VIH podría explicarse por la mayor prevalencia de los FRCV clásicos en estos individuos.

- **CREATIN KINASA-MB**

La enzima creatin kinasa (CK) existe como isoenzimas, constituidas por las cadenas M y B en tres combinaciones: MM, MB y BB. Estas isoenzimas residen en el citosol y facilitan la transferencia de fosfatos de alta energía a través de la mitocondria (358). El porcentaje de CK-MB es superior en el corazón que en la mayoría de los tejidos, motivo por el que en la actualidad se utiliza como marcador de daño miocárdico.

2.3.3. MARCADORES DE TROMBOSIS

- **FIBRINÓGENO**

El fibrinógeno sérico es un importante predictor de eventos cardiovasculares, pero existe controversia sobre si se trata de un factor de riesgo independiente o no (359;360). Esta pregunta fue abordada en un metanálisis en 2005 sobre un total de 150.000 sujetos sanos de mediana edad en un total de 31 estudios prospectivos. En cada grupo de edad se encontró una relación lineal entre los niveles de fibrinógeno y la aparición de eventos cardiovasculares o la mortalidad de causa cardiovascular (361).

- **DÍMEROS D**

Se ha postulado también que pequeños incrementos en los niveles de dímeros-D séricos, un producto circulante de la degradación de la fibrina, se asocian a cardiopatía isquémica en la población general. Algunos estudios han

encontrado correlación entre los niveles de dímeros-D y el desarrollo de enfermedad cardiovascular (361;362).

- **HOMOCISTEÍNA**

La homocisteína es un aminoácido intermediario formado por la conversión de metionina en cisteína. La homocistinuria o hiperhomocisteinemia es un trastorno autonómico recesivo que se caracteriza por niveles muy elevados de homocisteína en plasma y orina, retraso del desarrollo, osteoporosis, alteraciones oculares, enfermedad tromboembólica y aterosclerosis severa y precoz. Las elevaciones menos marcadas de la homocisteína son mucho más frecuentes, ocurriendo en un 5-7% de la población general (363;364). Si bien no se asocian con los estigmas clásicos de la homocistinuria, cada vez existen más datos que sugieren que la hiperhomocisteinemia moderada es un factor de riesgo independiente de enfermedad aterosclerótica y de tromboembolismo venoso recurrente.

- **OTROS FACTORES DE COAGULACIÓN**

Los pacientes con hemofilia y los portadores de la hemofilia parecen presentar menor mortalidad de causa cardiovascular (361;362). Este efecto protector parece ser menor en los portadores de la hemofilia (365).

2.3.4. DETERIORO DE LA FUNCIÓN RENAL COMO MARCADOR DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

El desarrollo de insuficiencia renal es un hecho que ha cobrado importancia en los pacientes con infección por VIH debido a la mayor supervivencia alcanzada con el TARGA, contribuyendo en la actualidad de manera relevante a la morbi-mortalidad de estos pacientes (366). Además de las nefropatías asociadas específicamente al VIH o a la coinfección por el VHC, la mayor longevidad de los pacientes, la mayor prevalencia de alteraciones metabólicas y la acumulación de FRCV pueden estar favoreciendo el desarrollo de enfermedad renal crónica en la población infectada por el VIH. El reconocimiento de que determinados fármacos antirretrovirales pueden producir daño renal constituye una preocupación añadida (367) y de hecho, en la actualidad existen diferentes guías clínicas que abordan el manejo específico de la enfermedad renal crónica en los sujetos infectados por el VIH (366;367).

Las consecuencias a largo plazo de la disfunción renal crónica en los pacientes con infección por el VIH no son todavía bien conocidas. En estos pacientes, el menor filtrado glomerular o la presencia de albuminuria se han asociado con un aumento de la mortalidad por todas las causas (368). Si bien el TARGA ha demostrado disminuir la incidencia y la gravedad de la nefropatía asociada al VIH (369;370), algunos antirretrovirales se han asociado con nefrotoxicidad, o con aumento en la incidencia de hipertensión y diabetes, que condicionan un aumento en el riesgo de desarrollo de insuficiencia renal (16;130).

- **ACLARAMIENTO ESTIMADO DE CREATININA**

La ecuación de MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*), que deriva de la medición realizada en 1.628 pacientes con nefropatía crónica (con tasas de filtrado glomerular –FG–, de entre 20–60ml/min/1,73m²) (371), estima el FG corregido para la superficie corporal y es la que recomienda la *National Kidney Foundation* de EE.UU. La ecuación de MDRD no está validada en pacientes con tasas de FG inferiores a 20 y superiores a 60ml/min, y puede subestimar el FG en pacientes con valores superiores a 60 ml/min. La fórmula original (6 variables) ajusta por marcadores surrogados de masa muscular (edad, peso, sexo y raza) y por la concentración de albúmina sérica. Se han desarrollado diversas versiones simplificadas de la ecuación MDRD; todas conservan una excelente correlación con el aclaramiento de iotalamato, que se usó como referencia para derivar la ecuación original. La fórmula simplificada más empleada (372) incluye solo 4 variables (no requiere la albúmina ni el peso) y es bastante precisa. Muchos laboratorios la calculan ya de forma automatizada a partir de los valores de creatinina, la edad, el sexo y la raza.

La ecuación EPI (*Epidemiology Collaboration*) se desarrolló para proporcionar una estimación más precisa del FG en individuos con FG normal o tan solo levemente disminuido (p.ej, >60 mL/min/1,73 m²) (373). Esta ecuación se desarrolló a partir de los datos de 10 estudios y posteriormente fue validado con los datos de 16 estudios adicionales, en el que el patrón de oro fue la medida directa del FG mediante marcadores externos de FG (iotalamato). La población de estudio incluyó sujetos con y sin enfermedad renal, con un rango

amplio de FG. Tras validar los datos, la ecuación EPI fue tan precisa como la ecuación MDRD en individuos con FG estimado menor de 60 mL/min, y sustancialmente más precisa en aquellos con tasas de FG superiores (374).

La ecuación EPI presentó menos sesgos en la población general, así como en los subgrupos definidos por edad, sexo, raza, diabetes y presencia de trasplante renal y rango de IMC elevado (375).

Datos procedentes del estudio ARIC (*Atherosclerosis Research in Communities*) (375) y AusDiab (*The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle*) (376) sugieren que el uso de la ecuación EPI estima respecto a la ecuación MDRD una menor prevalencia de insuficiencia renal crónica estimada y una predicción de eventos adversos más precisa. Además, la ecuación EPI, pero no la MDRD, es precisa para niveles de FG superiores a 60 mL/min/1,73 m².

- **ALBUMINURIA**

La albuminuria es un marcador precoz e independiente de RCV en la población general, incluso en ausencia de diabetes o hipertensión arterial (377). En un metanálisis con más de 100.000 individuos incluidos en el estudio, se demostró que la presencia de albuminuria superior a 10 mg/g o el filtrado glomerular estimado <60 mL/min son predictores independientes de mortalidad en la población general (378). También se han asociado a eventos cardiovasculares grados de albuminuria incluso menores: un estudio en la cohorte de Framingham encontró que cifras de albuminuria $\geq 3,9$ mg/g en varones $\geq 7,5$ mg/g en mujeres se asociaron con el triple de riesgo de presentar un evento

cardiovascular (379). En pacientes con infección por VIH, Gupta et al. evaluaron el efecto del TARGA sobre el cociente albúmina/creatinina en orina durante las 64 semanas iniciales de tratamiento en 69 pacientes naïve, sin diabetes o hipertensión arterial (380). Los pacientes fueron aleatorizados a dos ramas de tratamiento: unos recibieron combinaciones de fármacos con IP y otros sin IP. Tras el seguimiento, no se observó un efecto significativo del TARGA sobre la albuminuria, aunque su presencia se asoció significativamente con la carga viral basal ($r=0,25$; $p=0,04$), e inversamente con el recuento de linfocitos CD4 ($r=0,25$; $p=0,04$). Por otro lado, en un análisis en 922 pacientes con VIH del estudio FRAM (*Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection*), la presencia de microalbuminuria aislada (>30 mg/g) se asoció significativamente a una mayor mortalidad (20% vs 9%, $p<0,001$) (29).

- CISTATINA C

Debido a las limitaciones de los niveles de creatinina en la valoración de la insuficiencia renal por los cambios en la producción y secreción de la misma, otros compuestos endógenos, como la Cistatina C, han sido estudiados. Se trata de una proteína de bajo peso molecular perteneciente a la superfamilia de los inhibidores de proteasa cisteína. Esta molécula es filtrada en el glomérulo y no se reabsorbe, aunque sí es metabolizada en las células tubulares, lo que impide su uso como medida directa del aclaramiento. Se cree que la Cistatina C es producida por todas las células nucleadas, y se piensa que sus niveles no se afectan por el sexo, la edad o la masa muscular, aunque esto no se ha demostrado. La concentración de Cistatina C sérica se correlaciona de manera

más precisa con la tasa de filtrado glomerular que la creatinina sérica. Dharnidharka et al. llevaron a cabo un meta-análisis en el que se demostró que la Cistatina C es un marcador de FG superior a la creatinina sérica (381). En otros estudios, la Cistatina C ha demostrado ser un marcador más sensible de deterioro incipiente del FG (381-383). Usando el radioisótopo iotalamato como patrón de oro, los niveles de Cistatina C sérica empezaban a aumentar con niveles de filtrado glomerular de 90 mL/min/1,73m², mientras que la creatinina comenzaba a aumentar a niveles de 70 mL/min/1,73m² (384).

Como ya se ha comentado, el estudio SMART reclutó a 5472 pacientes con infección por VIH, que se siguieron prospectivamente entre 2002 y estudió los efectos de la interrupción del TARGA guiada por el recuento de linfocitos CD4. Utilizando las muestras de suero archivadas para estudios subsiguientes, se ha analizado recientemente la evolución de los niveles de Cistatina C y otros biomarcadores durante el seguimiento (al inicio, mes 1, 2, 4, 8 y 12) en una muestra seleccionada aleatoriamente de 249 pacientes en los que se interrumpió el TARGA (tratamiento ininterrumpido, TI) y 250 pacientes en los que no se interrumpió (supresión viral, SV) (385). En el momento de la aleatorización los niveles de Cistatina C fueron de 0.99±0.26 mg/dl y de 1.01±0.28 mg/dl en el grupo de TI y SV respectivamente (p=0.29). En el primer mes tras la aleatorización, el 21.8% y el 10.6% presentaron ≥0.15 mg/dl de aumento de Cistatina C en el brazo de TI frente al de SV respectivamente (p=0.0008). La diferencia en la Cistatina C entre ambos brazos de tratamiento se mantuvo a lo largo de todo el año tras la aleatorización. Tras ajustar por factores de confusión, los pacientes en el brazo de SV presentaron una

probabilidad significativamente menor de sufrir un empeoramiento ≥ 0.15 mg/dl en los niveles de Cistatina C durante el primer mes (OR: 0.42; IC95%: 0.23–0.74, $p=0.0023$). Los autores concluyeron, por tanto, que la interrupción del TARGA se asocia con un aumento de los niveles de Cistatina C, lo que reflejaría un deterioro de la función renal.

2.3.5. NECESIDAD DE NUEVOS ENFOQUES CLÍNICOS BASADOS EN MARCADORES DE INFLAMACIÓN

En el manejo de la infección por VIH, el enfoque clínico se ha basado en la optimización de dos marcadores surrogados, el recuento de linfocitos CD4 y la carga viral. Sin embargo, datos de dos estudios recientes sugieren que otros marcadores surrogados también deben ser monitorizados, aquellos que reflejan el nivel de inflamación en el organismo.

Tien y col. estudiaron la relación entre los niveles de PCR y fibrinógeno con el riesgo de muerte en más de 1000 sujetos con VIH, reclutados en el estudio FRAM entre 2000 y 2002 (386). Tras cinco años de seguimiento, los niveles basalmente elevados de PCR y fibrinógeno se asociaron con mayor mortalidad por todas las causas, tanto en la población total de pacientes como en los subgrupos estratificados por rangos de linfocitos CD4, incluyendo los pacientes con más de 500 CD4/mL. Tras ajustar por múltiples variables demográficas, relacionadas con el VIH, y FRCV, los pacientes con niveles basales aumentados de fibrinógeno y PCR presentaron un aumento del riesgo de mortalidad de 3.4 y 3.7 respectivamente, comparados con los pacientes con niveles más bajos.

Por otro lado, Baker et al. evaluaron el efecto del TARGA sobre los marcadores de inflamación utilizando datos del estudio SMART (77). Se evaluaron los niveles de PCR, IL-6 y dímeros-D durante los seis primeros meses de seguimiento en un subgrupo de participantes: 126 fueron aleatorizados a recibir TARGA intermitente y 128 a recibir TARGA ininterrumpido. El grupo de TARGA ininterrumpido presentó mayor descenso de los niveles de dímeros-D que el grupo de TARGA intermitente, con el mayor grado de descenso en el subgrupo de pacientes que alcanzó la supresión viral. La PCR y la IL-6 fueron algo menores, aunque no significativamente, en el grupo de TARGA ininterrumpido al sexto mes de seguimiento. Los autores postularon que un seguimiento mayor podría demostrar descensos significativos de los tres biomarcadores.

Estos datos refuerzan todo el cuerpo de evidencia que sostiene que el exceso de mortalidad en la infección por VIH se explica por la inflamación crónica ocasionada por el virus, inflamación que el recuento de CD4 y la carga viral, no reflejan fielmente.

II. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Existe un incremento en la prevalencia de enfermedad vascular subclínica (ECVs) en pacientes con infección por VIH respecto a la población general no relacionado con los factores de riesgo cardiovascular clásicos, sino con factores dependientes de la propia infección por VIH. Las tablas de predicción de RCV clásicas subestiman el riesgo de aterosclerosis subclínica en los sujetos con VIH al no tener en cuenta dichos factores. La inclusión de factores relacionados con la infección por VIH en los modelos de predicción SCORE y Framingham, así como el estudio de biomarcadores de inflamación y daño vascular, puede ayudar a mejorar la estratificación del riesgo cardiovascular de estos pacientes. Además, la presencia de deterioro renal incipiente podría predecir la presencia de daño vascular subclínico en sujetos con infección por VIH.

III. OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. PRINCIPALES

- Estudiar la capacidad diagnóstica de los modelos de Framingham y SCORE para la detección de enfermedad cardiovascular subclínica (ECVs) en pacientes con infección por VIH, tomando el grosor íntima-media carotideo (GIMc) como prueba de referencia.
- Analizar las características de los pacientes con discordancia entre el RCV predicho según los modelos de Framingham y SCORE y el hallado por ecografía carotídea.

2. SECUNDARIOS

- Identificar la frecuencia de ECVs en pacientes VIH mediante la medición del GIMc y analizar los factores asociados a su existencia.
- Estudiar la asociación de la ECVs con diferentes biomarcadores séricos: PCR, NT-proBNP, Cistatina C, Dímeros-D, Fibrinógeno, Interleukina-6, Homocisteína, Microalbuminuria, Lp-PLA2
- Comparar los modelos predictivos de Framingham y SCORE, determinando cuál de ellos predice mejor la presencia de ECVs en pacientes con VIH.
- Analizar factores relacionados con la infección por VIH que ayuden a mejorar la capacidad diagnóstica de los modelos Framingham y SCORE.
- Estudiar el papel de la presencia de deterioro renal incipiente como marcador de ECVs.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal descriptivo de una serie de casos de pacientes diagnosticados de infección por VIH.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La muestra está compuesta por un conjunto de 245 pacientes con infección VIH, provenientes de las consultas del Hospital de Día de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Se incluyeron pacientes con infección por VIH demostrada, con los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión:
 - pacientes naïve
 - pacientes que han recibido TARGA durante al menos un año.
- Criterios de exclusión: enfermedad vascular conocida, antecedentes de ictus, infarto de miocardio, enfermedad renovascular de origen aterosclerótico, claudicación intermitente.

3. ÁMBITO DEL ESTUDIO

Los pacientes se obtuvieron de una cohorte clínica de pacientes en las consultas de Hospital de Día de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínico San Carlos, del área 7 de salud de la Comunidad de Madrid.

4. PERIODO DEL ESTUDIO

El estudio se desarrolló en 15 meses, con inicio en Septiembre de 2009 y finalización en Enero de 2011.

5. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se seleccionó a los sujetos que cumplieron los criterios de inclusión, de manera consecutiva y que quisieran participar en el estudio durante el periodo del mismo.

6. VARIABLES DE ESTUDIO Y RECOGIDA DE LA INFORMACIÓN

6.1 VARIABLES DEPENDIENTE

Dado que el GIMc se correlaciona de manera linear con el riesgo de eventos cardiovasculares (213), los sujetos con mayor grado de aterosclerosis carotídea encontrado según el GIMc se denominaron pacientes con enfermedad cardiovascular subclínica. El resto de los pacientes se incluyó en el grupo de comparación. Se definió la variable de estudio de la siguiente forma:

- Presencia de enfermedad cardiovascular subclínica (ECVs): valor de GIMc superior al percentil 75 del global de la muestra y/o presencia de placa en la ecografía carotídea.

En todos los pacientes dos técnicos previamente entrenados y con una experiencia similar determinaron el GIMc, según los criterios de consenso de Mannheim (219, 220). De acuerdo con este consenso, el GIMc se identificó como un patrón de doble línea visualizado mediante ultrasonografía en una imagen longitudinal de ambas paredes de las arterias carótidas comunes. Estas líneas se corresponden con dos estructuras anatómicas: la interfase luz-intima y media-adventicia. La placa se definió como una estructura focal invadiendo la luz arterial de al menos 0,5 mm o del 50% del valor del IMT circundante; también se consideró placa un grosor mayor del 1,5 mm medido desde la interfase media-adventicia a la interfase íntima-luz. Tras posicionar al paciente en decúbito supino, con el cuello en ligera hiperextensión y giro hacia la izquierda, el GIMc se midió en la arteria carótida común derecha a 1 cm. de la bifurcación carotídea, 1 cm proximalmente al bulbo carotídeo y en el origen de la carótida interna (1 cm distalmente a la bifurcación), en regiones libres de placa en las que se visualizó el patrón de doble línea. Los vasos se estudiaron con ecografía en tiempo real y en modo doppler color mediante secciones longitudinales y transversales.

Para identificar la presencia de placas, se exploró todo el territorio carotídeo accesible (carótida común distal, bifurcación y carótida interna proximal) se realizaron secciones longitudinales y transversales en el estudio en modo B, y a

continuación se efectuó la exploración con Doppler color ajustando los parámetros técnicos (ganancia, frecuencia de repetición de pulsos y rango de velocidades) a las velocidades existentes en el vaso. El objetivo del estudio Doppler color fue identificar las placas anecoicas e hipoecoicas. El análisis de las placas incluyó su localización, número, altura máxima y características ecoestructurales.

El equipo consistió en un sistema de ecografía modelo HD7 (US-Philips®), en modo B con transductor linear de ultrasonidos de alta resolución de frecuencia de 12 MHz y se valoró la pared arterial en un corte longitudinal, perpendicular al rayo de ultrasonidos, visualizándose claramente ambas paredes con el fin de medir el diámetro arterial mediante ecografía en tiempo real y estudio doppler. La resolución axial fue de 0,1 mm para la imagen en tiempo real. El GIMc se midió en la pared más lejana, debido a su mayor fiabilidad. Se adquirieron imágenes de segmentos de al menos 10 mm en soporte informático para poder reproducir las medidas. Se utilizó un software de detección del GIMc previamente calibrado, programa QLab (*Advanced Quantification Software*). Este programa emplea un algoritmo inteligente que detecta parejas de píxeles a lo largo de cada línea de íntima-media escaneada basándose en múltiples criterios en lugar de simplemente gradientes de brillo en la imagen. Mediante la evaluación de parejas de píxeles a lo largo de cada línea escaneada en la región de interés seleccionada, el programa QLab proporciona una imagen espacialmente ponderada, siendo más difícil que se vea alterada por irregularidades aleatorias en la pared del vaso. Este programa ha sido validado

exhaustivamente con especímenes histológicos y entre diferentes observadores (387).

Se realizó un estudio piloto para estudiar el coeficiente de correlación intraclase interobservador, tanto para el GIMc como para la presencia o no de placa. Se estudiaron un total de 29 pacientes en donde los dos técnicos de manera independiente realizaron las determinaciones de GIMc y placa. Se comenzó el estudio definitivo tras obtener índices de concordancias excelentes (mayores $\geq 0,80$). El coeficiente de correlación intraclase para el GIMc fue 0,926 (0,849-0,965), con una media de diferencias inter-observador de -0.00034 (-0,018 - 0,017], sin ser estas diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,968$). Para la presencia de placa, el coeficiente de correlación kappa fue de 0,782. La **figura 7** representa el análisis de Bland-Altman.

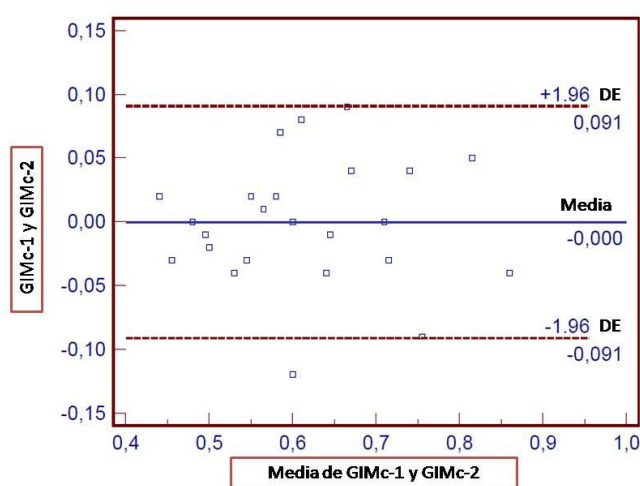


Figura 7. Análisis de Bland-Altman

6.2 VARIABLES INDEPENDIENTES

En toda la población del estudio se recogió la siguiente información: sexo, edad, antecedentes familiares de cardiopatía isquémica precoz, historia de tabaquismo, antecedente de hipertensión arterial (cifras de presión arterial persistentemente $>140/90$ mm Hg) y cifras de presión arterial, o de diabetes (criterios de la *American Diabetes Association*), y tratamiento para control de los FRCV si existieron (hipolipemiantes, antihipertensivos, antiagregantes, antidiabéticos orales o insulina). Se determinó, la presencia de síndrome metabólico, de acuerdo con los criterios *ATP III* (172).

Para la estimación de la categoría de RCV en la que se encontraba cada paciente, se emplearon los modelos SCORE y Framingham. En el caso del modelo SCORE, se calibro el modelo según las recomendaciones establecidas para el cálculo del RCV en población española (195). Los pacientes se clasificaron como de riesgo alto cuando el RCV estimado fue $\geq 5\%$, y de RCV bajo cuando fue $< 5\%$. Para el modelo de Framingham, se consideró RCV alto cuando los pacientes presentaron un RCV estimado $\geq 10\%$, y de riesgo bajo cuando fue $< 10\%$. El modelo de Framingham considera el RCV $\geq 10\%$ como riesgo intermedio (172), categoría que no contempla el modelo SCORE (186) y RCV elevado a partir del 20%. Dado que en las guías ATP III esta categoría de riesgo intermedio ya implica objetivos terapéuticos más exigentes a los de la población general en cuanto al control de los lípidos (172), y debido a que de cara a comparar los modelos Framingham y SCORE precisábamos definir únicamente dos categorías de RCV para cada modelo, en nuestro estudio

consideramos para el modelo de Framingham RCV alto a los sujetos con riesgo estimado $\geq 10\%$.

Se investigó además tiempo desde el diagnóstico de la infección VIH, así como la historia de coinfección por VHC y VHB. También se recogieron datos relativos al tratamiento antirretroviral recibido hasta el momento de inclusión en el estudio.

Las variables sociodemográficas, antropométricas y clínicas se completaron de forma sistemática en la consulta médica y de enfermería.

6.2.1 VARIABLES ANALÍTICAS

Las determinaciones de laboratorio se obtuvieron a partir de la extracción de sangre de cada sujeto tras una noche de ayuno en la mañana del estudio. Se obtuvieron 20 mL de sangre de una vena antecubital. Las muestras de sangre se recogieron en tubos EDTA y se centrifugaron inmediatamente a temperatura ambiente. Una parte alícuota del suero se congeló a continuación a -70°C para su conservación.

- Perfil glucémico: compuesto por glucemia basal, insulina, y cálculo del índice de resistencia insulínica HOMA (*homeostasis model assessment*) mediante la fórmula: $\text{insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa } (\text{mg/dL}) / 22,5$. La glucosa plasmática se determinó por un método glucosa-hexoquinasa, mediante un autoanalizador (Olympus Diagnostics AU2700®). Para la insulina se empleó una técnica de quimioluminiscencia (IMMULITE

2000®, Siemens Diagnostics). La hemoglobina glicosilada se determinó mediante cromatografía de intercambio iónico (HPLC, sistema TOSOH-G8®).

- Perfil lipídico: compuesto por el colesterol total, cHDL, cLDL, triglicéridos, apolipoproteínas (Apo) A1 y B100 y lipoproteína(a). La ApoA1, ApoB y cHDL fueron determinados por nefelometría (sistema VISTA®, Siemens Diagnostics). EL colesterol total, el cHDL y los triglicéridos fueron determinados por el método CHOD-PAP (inmunoinhibición colorimétrica, Olympus System Reagent AU5400®). El cLDL fue calculado por el método Friedewald, salvo en pacientes con niveles de colesterol por encima de 400 mg/dL ($cLDL = \text{Colesterol total} - [\text{Triglicéridos}/5] + cHDL$).
- Perfil inmunológico: carga viral del VIH, recuento de linfocitos CD4, serología para virus de la hepatitis B y C.

El recuento de linfocitos CD4+ se realizó por citometría de flujo estándar. La carga viral de VIH-1 se estableció por reacción en cadena de la polimerasa, con un límite inferior de 20 copias/mL.

La infección por VHB y VHC se diagnosticó mediante serología positiva para dichos virus por enzima-inmunoensayo.

- Biomarcadores séricos: PCR ultrasensible, NT-proBNP, cistatina C, creatinina, microalbuminuria, creatin kinasa-MB, homocisteína, fibrinógeno, dímeros-D, interleukina-6, Lp-PLA2.

La PCR fue determinada por nefelometría (sistema VISTA®, Siemens Diagnostics). Para la interleukina-6 y la homocisteína se empleó una técnica de quimioluminiscencia (IMMULITE 2000®, Siemens Diagnostics). Los Dímeros-D y los tiempos de coagulación se determinaron por turbidimetría (sistema ACL-TOP®), y los de fibrinógeno a través del método dPT (derivado del Tiempo de Protrombina).

Para la creatinina se utilizó la técnica de Jaffé cinético (picrato en medio alcalino, sistema Olympus Diagnostics AU2700®), y la cistatina C se determinó mediante nefelometría (sistema BN-Prospect®, Siemens Diagnostics).

Para la detección de albuminuria se utilizó el cociente albúmina/creatinina en orina; para ello se recogió una muestra de orina de cada sujeto, determinándose la albúmina y la creatinina en orina mediante turbidimetría (sistema Olympus Diagnostics AU2700®).

Para la creatin kinasa-MB y el NT-proBNP se utilizó la técnica de inmunoensayo LOCI (sistema VISTA®, Siemens Diagnostics).

La Lp-PLA2 se determinó mediante inmunoensayo turbidimétrico (Lp-PLA2 control kit y diaDexus PLACTM Test Reagent Kit®).

El filtrado glomerular estimado, se calculó a través de las fórmulas MDRD (371) y EPI (373).

6.2.2 DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Una única enfermera determinó en una consulta programada el peso, talla, índice de masa corporal y diámetro de la cintura. Estudió además la presencia de lipodistrofia mediante la escala de valoración de la severidad de la lipodistrofia LSGS (*Lipodystrophy Severity Grading Scale*) de la cohorte *HOPS* – ver anexo 1 –. Se examinó con especial cuidado la cara y las piernas de los pacientes (lugares con potencial pérdida de grasa), y la región dorso-cervical y el abdomen (lugares con potencial acumulación de grasa). La concordancia entre el explorador y el paciente sobre la misma localización como al menos “cambios moderados” se consideró diagnóstico de lipodistrofia. Se diagnosticó de lipoatrofia cuando solo se detectó pérdida de grasa y la puntuación obtenida fue de al menos 4 (0-24) y lipoacumulación cuando solo se encontró acúmulo y la puntuación obtenida fue de al menos 4 (0-18). El término lipodistrofia engloba a cualquiera de las formas mencionadas.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Protección de datos:

En las bases de datos no se incluyó información que pudieran identificar directa o indirectamente a los participantes en el estudio, de acuerdo con las normas internacionales de protección de datos, así como con la legislación española vigente. Los investigadores del estudio se responsabilizaron de la seguridad de las bases de datos, que no podrán ser utilizadas para otro fin que el señalado en el apartado de objetivos específicos.

Consentimiento informado (anexo 1):

Se administró a todos los pacientes la hoja de consentimiento informado previamente a la realización de la entrevista y obtención de los datos del estudio, respetando las normas de la declaración de Helsinki. En ella se explicaron los objetivos y procedimientos del estudio y se aseguró la confidencialidad de los datos. Se recogió convenientemente firmada. En caso contrario los pacientes no fueron incluidos en el estudio.

Permisos y autorizaciones: se solicitó la autorización del Comité de Ética y del Comité de Investigación, que aprobó el protocolo del estudio.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

8.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumen en su media y su desviación estándar (DE) y, las variables que no siguen una distribución normal se expresan con mediana y rango intercuartílico (RIC). En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos.

8.2 ESTUDIO PILOTO DE FIABILIDAD O REPRODUCIBILIDAD INTER-OBSERVADOR

La reproducibilidad entre observadores para variables categóricas se estudió mediante el cálculo del índice kappa. Dicho índice puede tomar valor -1, cuando existe una discordancia sistemática, y 1, cuando existe concordancia sistemática. La clasificación para interpretar los valores del índice kappa es la siguiente: >0,8 excelente, 0,61-0,8 bueno 0,41-0,6 moderado 0,21-0,4 bajo y <0,21 pobre.

La reproducibilidad para variables continuas se estudió mediante el coeficiente de correlación intraclase (CCI), la comparación de medias apareadas mediante el test t de Student para muestras relacionadas y a través de la realización del gráfico de Bland y Altman. Este gráfico se basa en calcular las diferencias y los promedios (medias) entre cada par de valores y luego construir un diagrama de dispersión representando las diferencias en el eje de ordenadas y el valor medio en el eje de abscisas. Además se calculó la media y DE de la diferencia de

las dos evaluaciones para dibujar en dicho gráfico los límites de acuerdo (IC 95% de la variable media de las diferencias) para la variable diferencia.

8.3 RELACIÓN DE LA EDAD Y EL GIMc

Se estudió la relación lineal entre el GIMc y la edad como variables continuas mediante el coeficiente de correlación paramétrico de Pearson.

8.4 ANÁLISIS COMPARATIVO: PRESENCIA DE ECVs

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas y la presencia de ECVs mediante el test de Chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5. Como medida de efecto se calculó el Odds Ratio (OR) junto a su intervalo de confianza (IC) al 95%.

Para las variables cuantitativas que se distribuyen de manera normal se utilizó la prueba t de Student para grupos independientes. Se calcularon las diferencias de medias junto a sus IC al 95%. Para las variables que no se distribuyen de manera normal se utilizó el test no paramétrico U- de Mann Whitney y/o prueba de la mediana. Como medida de efecto se calculó la OR junto a su IC al 95% (tomando como referencia los sujetos con valores por debajo de la mediana).

Se ajustó un modelo de regresión logística con el objetivo de identificar aquellas variables que se relacionaban de manera independiente con la

presencia de ECVs. La variable dependiente fue la presencia de ECVs (variable dicotómica). Se introdujeron en el modelo aquellas variables que en el análisis univariado fueron estadísticamente significativas y/o clínicamente relevantes.

Se realizó un análisis estratificado evaluando la modificación del efecto entre la edad y cada una de las variables seleccionadas para su introducción en el modelo, y la presencia de enfermedad subclínica.

Se presentan los OR ajustados junto a sus intervalos de confianza al 95%. Los parámetros del modelo con signo positivo indican un aumento de la relación, es decir, una mayor frecuencia de evento para un valor alto de la variable x . Un parámetro β con signo negativo indica una menor frecuencia de evento para un valor alto en la variable x . La contribución de una variable x se valora con el exponente e^{β} , que es el factor por el cual se multiplica el riesgo de un sujeto cuando la variable x se incrementa en una unidad. Este exponente se interpreta como la odds ratio de los sujetos. En variables dicotómicas significa pasar de la ausencia (0) a la presencia (1) del factor x . En variables cuantitativas se interpreta como el incremento lineal de la probabilidad cuando se incrementa la variable x en una unidad. Se evaluó la existencia de interacciones, introduciendo las variables independientes multiplicativas con pruebas de significación estadística y se mantienen en el modelo los términos de interacción estadísticamente significativos. Se introdujeron en el modelo las interacciones significativas identificadas en el análisis estratificado.

8.5 CONCORDANCIA ENTRE LA PRESENCIA DE ECVs Y EL RIESGO PREDICHO MEDIANTE LAS ECUACIONES DE RIESGO CARDIOVASCULAR MEDIANTE FRAMINGHAM Y SCORE

Se estudio la concordancia, entre el riesgo cardiovascular predicho por las fórmulas de RCV estimadas por Framingham y SCORE y la presencia de ECVs, mediante el cálculo del índice kappa. También se calculo el coeficiente de correlación lineal no paramétrico de Spearman entre el GIMc como variable continua y el riesgo estimado por ambas fórmulas como variables continuas. Por último, para las variables continuas RCV predichas por ambas fórmulas se realizaron curvas ROC (“Receiver Operating Characteristic”) con el fin de obtener una medida global de la exactitud de la prueba para el conjunto de todos los posibles puntos de corte. El área bajo la curva ROC (se simboliza como AUC “*Area Under Curve*”) es una valor comprendido entre 0,5 y 1 que se utiliza como medida de exactitud global; un área igual a 1 indica que una prueba diagnóstica perfecta, mientras que una prueba sin poder diagnóstico le corresponde un área igual a 0,5. Se calcularon las AUC junto con sus intervalos de confianza al 95% y su significación estadística.

8.6 CONTRIBUCIÓN AL FRAMINGHAM Y SCORE DE LAS VARIABLES RELACIONADAS CON EL VIH EN LA PREDICCIÓN DE LA ECVs

Se calculó mediante un modelo de regresión logística (variable dependiente: presencia ECV) el AUC y la sensibilidad y especificidad del modelo (obtenida a través de la tabla de clasificación de los sujetos entre el valor observado y el pronostica por el modelo) para el RCV estimado mediante las fórmulas del Framingham y

SCORE. Se fueron añadiendo una a una las características del VIH al modelo y calculando la AUC y la sensibilidad y especificidad. Se seleccionaron aquellas variables que producían un aumento del AUC respecto al modelo inicial (sin ninguna variable relacionada con el VIH) y unos índices de sensibilidad y especificidad más altos. Se compararon las AUC del modelo inicial y del modelo final seleccionado.

Esta estrategia se siguió para ambas fórmulas (Framingham y SCORE).

8.7 DETERIORO FUNCIONAL Y ECVs

Para la búsqueda de la mejor definición de deterioro renal incipiente, se estudiaron la sensibilidad, especificidad y AUC de diferentes definiciones para la presencia de ECVs, eligiendo la que presentó los mejores índices de clasificación de los sujetos. Con el objetivo de evaluar el efecto del deterioro funcional en la ECVs se ajustó un modelo de regresión logística explicativo. Se introdujeron en el modelo aquellas características de los sujetos que se relacionaban con la ECVs y/o presentaban diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de deterioro funcional (Si/No). Como estrategia de ajuste se estimó el OR bruto del efecto del deterioro funcional, posteriormente se fue ajustando individualmente este efecto por cada una de las potenciales variables confundidoras. Se mantuvieron en el modelo final, aquellas variables que tras su ajuste producían un cambio relativo $\geq 10\%$ en la OR bruta del deterioro funcional.

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error a menor a 0.05. El paquete estadístico para el análisis fue SPSS v15.0 y STATA 9.0.

V. RESULTADOS

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Nuestra población de pacientes con infección por VIH se compuso de 267 individuos, de los cuales el 86,5% fueron varones y 13,5% mujeres. Las características generales de estos pacientes y la frecuencia de FRCV clásicos se describen en la **tabla 7**.

Alrededor del 10% de los pacientes no habían iniciado TARGA. Respecto a los FRCV, existe una frecuencia destacable de tabaquismo (43,1%), tratándose por lo demás de una población relativamente joven (edad media $46 \pm 11,1$ años), con una frecuencia de hipertensión arterial del 15,7%, diabéticos el 9% y obesos únicamente el 2,6%. La frecuencia de hipercolesterolemia (colesterol ≥ 200 mg/dL) fue del 38,8%, y la de hipertrigliceridemia (triglicéridos ≥ 150 mg/dL) del 22,3%. El 12,4% cumplió criterios de síndrome metabólico (variable definida según los criterios ATPIII).

Tabla 7: Características generales de la población

N= 267	%
Edad (años)*	46 (11,1)
Varones /Mujeres	86,5/13,5
Naïve	10,6
Tabaquismo	43,1
Hipertensión arterial	15,7
PAS (mmHg)*	117,5 (15,6)
PAD (mmHg)*	73,3 (9,9)
Diabetes mellitus tipo 1	1,1
Diabetes mellitus tipo 2	7,9
AF cardiopatía isquémica precoz	13,7
Talla (cm)*	170,7 (10,1)
Peso (kg)*	70,4 (13,0)
Cintura (cm)*	88,3 (10,2)
IMC* (kg/m ²)*	23,8 (2,9)
Obesidad (IMC>30)	2,6
Colesterol total (mg/dL)	186,8 (40,1)
Hipercolesterolemia (%)	38,8
Triglicéridos (mg/dL)*	159,3 (98,2)
Hipertrigliceridemia (%)	22,3
cHDL (mg/dL)*	49,9 (12,4)
cLDL (mg/dL)*	106,3 (35,1)
Síndrome metabólico (%)	12,4
* Media (DE)	
PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; AF: antecedentes familiares, IMC: índice de masa corporal	

La **tabla 8** describe las variables relacionadas con la infección por VIH en el global de la muestra.

Tabla 8. Descripción de las variables relacionadas con la infección por VIH en el global de la muestra

N= 267	%
Naïve	10,6
Lipodistrofia	31,2
Carga viral indetectable	73,8
Linfocitos CD4 (cél/mL) *	523 (272-692)
Años de duración de la infección VIH *	10 (4-16)
Meses de exposición a ITIAN *	123 (42-243)
Meses de exposición a análogos timidínicos *	0 (0-56)
Meses de exposición a ITIAN *	22 (0-51)
Meses de exposición a IP *	24 (0-92)
Coinfección por VHB	9,8
Coinfección por VHC	27,2
* Expresado como mediana (RIQ)	

En cuanto a los modelos de predicción del RCV; al aplicar el modelo de Framingham el 23,6% de los sujetos presentaron un riesgo intermedio-alto ($\geq 10\%$), mientras que el modelo SCORE clasificó como de riesgo alto ($\geq 5\%$) al 16,5% de los sujetos.

La determinación del GIMc se realizó en 234 sujetos, 201 varones y 33 mujeres. Los valores de GIMc, tanto en varones como en mujeres, aumentaron con la edad, presentando los varones respecto a las mujeres mayores valores para un mismo grupo de edad. En la **tabla 9** se describen los valores de GIMc por grupo de edad y sexo, con sus percentiles 25, 50 y 75.

Tabla 9. Valores del GIMc por rango de edad en 234 sujetos con infección por VIH.

Sexo	Grupo de edad (años)	N (234)	Media (mm)	Desviación estándar (mm)	Percentil 25 (mm)	Mediana (mm)	Percentil 75 (mm)
Varón (N=201)	≤ 35	35	0,48	0,05	0,44	0,49	0,52
	36 - 45	76	0,57	0,12	0,49	0,55	0,62
	46 - 55	84	0,58	0,10	0,51	0,57	0,64
	56 - 65	22	0,72	0,19	0,56	0,70	0,80
	> 65	14	0,69	0,12	0,61	0,67	0,78
Mujer (N=33)	≥ 35	8	0,43	0,06	0,40	0,43	0,45
	36 - 45	11	0,54	0,07	0,51	0,53	0,58
	46 - 55	13	0,58	0,07	0,56	0,57	0,61
	56 - 65	3	0,60	0,02	0,58	0,60	0,61
	> 66	1	0,72	.	0,72	0,72	0,72

El GIMc se correlacionó positivamente con la edad ($r = 0,484$; $p < 0,001$). Según la ecuación de la recta de regresión (**figura 8**), en los varones el GIMc aumentaba 0,0133 mm por año de edad ($r = 0,454$; $p < 0,001$), siendo en mujeres el incremento anual de GIM de 0,0071 mm ($r = 0,757$; $p < 0,001$) (**figura 9**). Las correlaciones entre el GIMc y otros FRCV también fueron positivas, aunque con menor fuerza de la asociación: $r=0,33$ para el IMC ($p<0,001$); $r=0,33$ para la presión arterial sistólica ($p<0,001$); $r=0,18$ para la presión arterial diastólica ($p=0,013$), y $r=0,29$ para el colesterol LDL ($p<0,001$). No se encontraron diferencias en las medias de GIMc por sexo: 0,042 mm (-0,005; 0,09), $p = 0,078$).

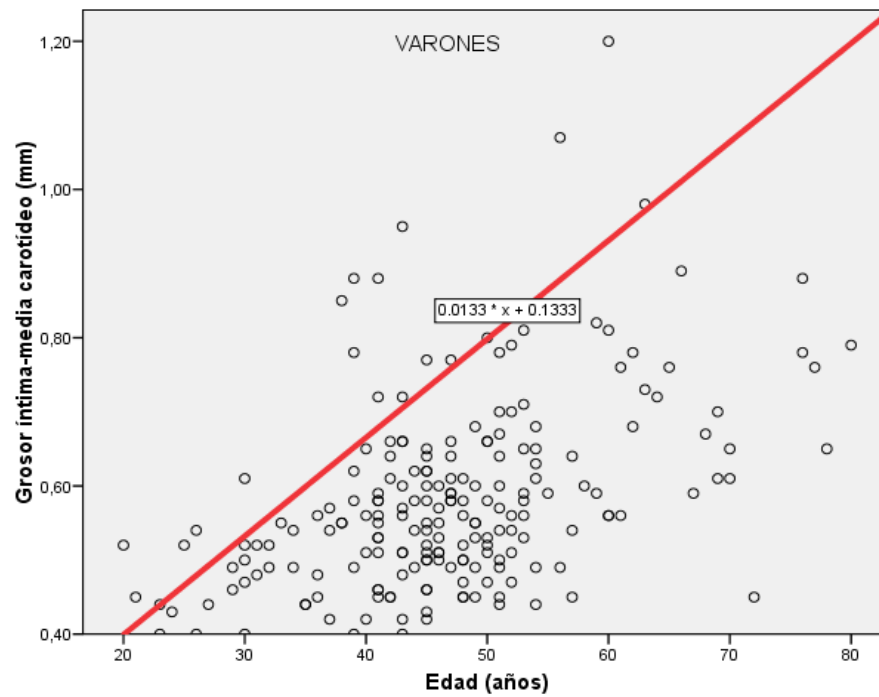


Figura 8. Diagrama de dispersión: relación lineal de la edad con el GIMc en varones.

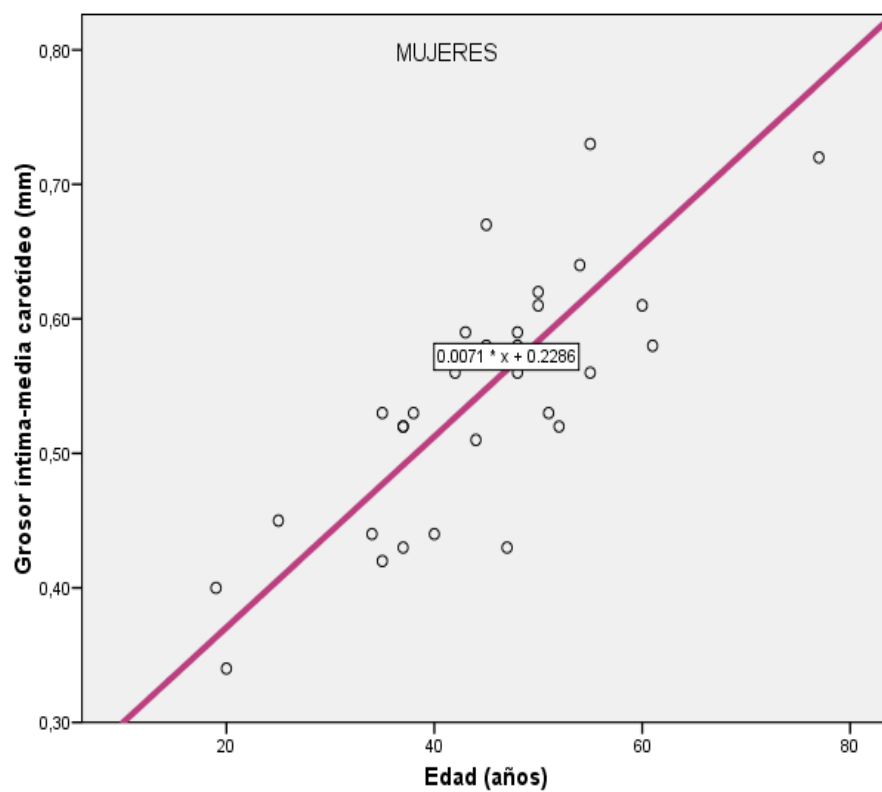


Figura 9. Diagrama de dispersión: relación lineal de la edad con el GIMc en mujeres.

Se encontraron placas carotideas en 13 casos (18%), únicamente en un caso dentro del grupo de mujeres. La proporción de placas varió por grupos de edad (**tabla 10**), encontrándose en mayor medida en el grupo de 46-55 años (36,5% del total de placas, $p = 0,024$). La presencia de placas no se relacionó con el hábito tabáquico, la prevalencia de hipertensión arterial, diabetes mellitus ni la de lipodistrofia.

Tabla 10. Frecuencia de presencia de placa por edad y sexo en 234 sujetos con infección por VIH.

Sexo	Grupo de edad (años)	Placa ateroma	
		no	si
Varón	≤ 35	N	25
		% de varones	12,5%
	36 - 45	68	2
		34,0%	1,0%
	46 - 55	68	4
		34,0%	2,0%
Mujer	56 - 65	18	2
		9,0%	1,0%
	> 66	10	3
		5,0%	1,5%
	≤ 35	N	6
		% de mujeres	18,2%
	36 - 45	11	0
		33,3%	0%
	46 - 55	12	1
		36,4%	3,0%
	56 - 65	2	0
		6,1%	0%
	> 66	1	0
		3,0%	0%

2. ANÁLISIS COMPARATIVO EN FUNCIÓN DE LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA

2.1. Variables demográficas y factores de riesgo cardiovascular

Se diagnosticó de enfermedad cardiovascular subclínica (ECVs) a los pacientes con GIMc mayor del percentil 75 (0,64 mm) o con presencia de placas de ateroma carotideas. De acuerdo con esta definición, presentaron ECVs 65 sujetos (36%), cuyas características generales se resumen en la **tabla 11**. Estos pacientes tenían mayor edad (53,9 años $\pm 10,5$ vs 44,3 $\pm 8,9$; $p < 0,001$), mayor perímetro de cintura (91,2 cm $\pm 8,5$ vs 87,6 $\pm 10,4$; $p < 0,001$), mayores cifras de presión arterial sistólica (121 mmHg ± 18 vs 115 ± 16 ; $p = 0,012$), así como mayor frecuencia de hipertensión arterial (24,6% vs 13,6%; OR: 2,1; IC95%: 1,0-4,2; $p = 0,036$), diabetes mellitus (20,0% vs 6,0%; OR: 3,9; IC95%: 1,6-9,6; $p = 0,006$) y síndrome metabólico (21,1% vs 9,9%; OR: 2,4; IC95%: 1,1-2,5; $p = 0,032$). La proporción de pacientes con ECVs fue mayor en varones que en mujeres, rozando la significación estadística (70,1% vs 29,9%; OR: 1,9; IC95%: 0,9-4,5; $p = 0,057$). No se encontraron diferencias significativas en la proporción de fumadores ni en el índice de masa corporal.

Tabla 11. Características generales en la población de pacientes con infección por VIH en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc (GIMc >p75 o presencia de placa).

	Sin ECVs %	Presencia de ECVs %	Medida de efecto	P
N=234	72,2	27,8		
Edad (años)*	44,3 (8,9)	53,9 (10,5)	9,6 (6,9;12,3)	<0,001
Sexo χ^{**}				
Varón	70,1 (N=141)	29,9 (N=60)	1,9 (0,9-4,5)	0,057
Mujer	84,8 (N=28)	15,2 (N=5)	1	
IMC (kg/m²)*	23,7 (2,8)	24,2 (2,7)	0,5 (-0,3;1,3)	0,220
Obesidad	3,1	1,6	0,5 (0,1-4,4)	0,457
Cintura (cm)*	87,6 (10,4)	91,2 (8,5)	3,6 (0,5;6,5)	0,013
Tabaquismo	44,9	41,5	0,8 (0,5-1,6)	0,373
TA sistólica (mmHg)*	115 (16)	121 (18)	6,0 (1,7;11,0)	0,012
TA diastólica (mmHg)*	72 (10)	73 (10)	1,0 (-1,7;4,1)	0,423
Diabetes mellitus χ	6,0	20,0	3,9 (1,6;9,6)	0,006
Hipertensión arterial χ	13,6	24,6	2,1 (1,0;4,2)	0,036
Síndrome metabólico χ	9,9	21,1	2,4 (1,1;5,5)	0,032
* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95%				
** Porcentaje de fila				
χ Prueba de Chi cuadrado. Medida de efecto: OR (IC95%)				

2.2. Variables relacionadas con la infección por VIH

Los pacientes con y sin ECVs se diferenciaron también en aquellas variables relacionadas con la infección por VIH, como se resume en la **tabla 12**. Muy pocos pacientes con ECVs fueron naïve, por lo que los pacientes con ECVs se encontraban mayoritariamente en TARGA (OR: 4,6; IC95%: 1,1-20,3; p=0,017). Estos pacientes presentaban también mayor antigüedad de la infección por VIH (\geq p50 [10 años] 57,8% vs 56,9%; OR: 1,8; IC95%: 1,0-3,2). El tiempo acumulado en TARGA fue también mayor en los pacientes con ECVs (\geq p50 [76 meses] 68,8% vs 42,4%; OR: 3,0; IC95%: 1,6-5,5), y por grupo farmacológico se encontró asociación estadísticamente significativa con un mayor tiempo acumulado de exposición a ITIAN (\geq p50 [132

meses] 69,8% vs 41,7%; OR: 3,2; IC95%: 1,7-6,0), a análogos timidínicos (AZT; d4T) (\geq p50 [0 meses] 60,3% vs 40,7%; OR: 2,2; IC95%: 1,2-4,0) y a IP (\geq p50 [24 meses] 61,9% vs 45,1%; OR: 1,9; IC95%: 1,1-3,6). Los pacientes con ECVs presentaron también en mayor medida lipodistrofia (48,4% vs 26,1%, OR = 2,6; IC95%: 1,4-4,9). Los pacientes con ECVs presentaron con mayor frecuencia una inmunidad mejor preservada (\geq 250 CD4/mL: 82,8% vs 92,2%; OR: 0,4; IC95%: 0,2-0,6). No se encontraron diferencias entre ambos grupos en la carga viral, la duración del tratamiento acumulado con ITINAN ni la prevalencia de coinfección por VHC.

Tabla 12. Diferencias en las variables relacionadas con la infección por el VIH en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc.

	Sin ECVs %	Presencia de ECVs %	Medida de efecto	P
En TARGA \bar{x}	87,0	96,9	4,6 (1,1-20,3)	0,017
Duración infección VIH (años) \bar{y}	10 (4-15)	13 (6-17,5)		0,021
Carga viral detectable \bar{x}	28,6	19,0	0,6 (0,3-1,2)	0,095
Log. Carga viral	2,0 (1,2)	1,6 (0,7)		0,406
Linfocitos CD4 (cél/mL) \bar{s}	528 (383-725)	489 (325-699)		0,319
CD4 >250 cél/mL \bar{x}	92,2	82,8	0,4 (0,2-0,6)	0,036
Duración TARGA (meses) \bar{y}	58 (16-123)	102 (47,5-144)		0,002
Duración ITIAN (meses) \bar{y}	104 (30-216)	212 (90-258)		<0,001
Duración análogos timidínicos (meses) \bar{y}	0 (0-50,25)	32 (0-80)		0,002
Duración ITINAN (meses) \bar{y}	19 (0-47)	27 (0-81)		0,172
Duración IP (meses) \bar{y}	11 (0-91,25)	38 (6-92)		0,029
Coinfección por VHC \bar{x}	27,5	28,8	1,1 (0,6-2,1)	0,485
Lipodistrofia \bar{x}	26,1	48,4	2,7 (1,4-4,9)	0,001
* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95% \bar{x} Prueba de Chi cuadrado. Medida de efecto: OR (IC95%) \bar{s} Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana \bar{y} Expresado como mediana (RIQ). Prueba de Mann-Whitney. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana				

2.3. Niveles de biomarcadores

En la **tabla 13** se resumen las diferencias encontradas en las determinaciones de los distintos biomarcadores evaluados.

Tabla 13. Diferencias entre biomarcadores en función de la presencia de ECVs determinada por GIMc.

Biomarcador	Sin ECVs %	Presencia de ECVs %	Medida de efecto	P
Glucosa (mg/dL) *	95,2 (16,5)	105,1 (35,3)	9,9 (0,1;19,0)	0,003
Hemoglobina glicosilada *	5,5 (0,6)	5,8 (0,9)	0,3 (0,03;0,5)	0,009
Insulina (μIU/mL) *	7,6 (3,6-13,5)	9,3 (5,5-16,7)	1,7 (1,2;4,1)	0,021
Resistencia a la insulina (HOMA) α	21,1	33,9	1,9 (1,0-3,6)	0,05
Creatinina (mg/dL) *	1,1 (0,2)	1,2 (0,8)	0,1 (0,01;0,5)	0,109
Cistatina C (mg/dL) *	0,8 (0,2)	0,8 (0,2)	0 (-0,02;0,1)	0,348
FG (mL/min/1,73 m ²) *J	96,8 (10,1)	89,2 (10,7)	-7,6 (-10,6;4,7)	<0,001
Cociente albúmina/creatinina en orina (mg/g) §	4 (3-7)	7 (4-16)		<0,001
Perfil lipídico				
Colesterol (mg/dL) *	186,7 (42,0)	189,2 (37,7)	2,5 (-9,3;14,4)	0,654
cHDL (mg/dL) *	50,3 (12,6)	49,2 (12,3)	-1,1 (-4,7;2,5)	0,721
cLDL (mg/dL) *	105,7 (34,4)	107,6 (30,7)	1,9 (-12,2;8,0)	0,566
Triglicéridos (mg/dL) *	157,1 (97,9)	176,3 (103,5)	19,2 (-9,6;48)	0,191
Apolipoproteína (A) (mg/dL) *	148,2 (33,8)	145,0 (30,6)	-3,2 (-13,4;6,8)	0,526
Apolipoproteína (B) (mg/dL) *	93,9 (26,6)	95,7 (25,1)	1,8 (-6,3;9,7)	0,663
Lipoproteína (a) §	12,8 (5,5-31,9)	10,9 (3,9-26,2)		0,506
Marcadores de inflamación/trombosis				
Proteína C reactiva (mg/L) §	1,4 (0,6-3,5)	2,1 (0,8-4,8)		0,040
Interleukina-6 (pg/mL) ¥	1,9 (1,9-2,6)	1,9 (1,9-3,3)		0,132
LpPLA-2 (ng/mL) *	235,5 (76,6)	233,7 (68,8)	-1,8 (-30,1;26,5)	0,569
Fibrinógeno (mg/dL) *	320,1 (74,1)	323,1 (97,1)	3,0 (-23,2;29,4)	0,823
Homocisteína (μmol/L) ¥	10,7 (8,6-13,3)	11,5 (10,2-12,4)		0,114
Dímeros-D elevados (>p75 [333 ng/mL])(%) α	38,0	53,5	1,5 (1,1-3,5)	0,023
Creatin kinasa-MB (ng/mL) ¥	0,7 (0,1-1,5)	1,1 (0,6-1,91)		0,019
NT-proBNP (>p75 [72,6 pg/mL])α	19,7	33,3	2,0 (1,0-4,1)	0,037
PCR elevada (>3 mg/L) +	62,3	69,1	1,4 (0,6-2,9)	0,278
LpPLA-2 elevada(>235 ng/mL)α				
* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95%				
α Prueba de Chi cuadrado. Medida de efecto: OR (IC95%)				
§ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana. Medida Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05)				
¥ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de Mann-Whitney. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05).				
J Filtrado glomerular estimado mediante la fórmula EPI				

Los pacientes con infección por VIH y aterosclerosis carotídea presentaron un perfil glucémico más desfavorable: mayores niveles de glucosa sérica (**figura 10**) ($105,1 \text{ mg/dL} \pm 35,3$ vs $95,2 \pm 16,5$; $p=0,003$), porcentaje de hemoglobina glicosilada (figura 11) ($5,8 \pm 0,9$ vs $5,5 \pm 0,6$; $p=0,009$), insulina (**figura 12**) ($9,3 \text{ } \mu\text{IU/mL}$ [$5,5\text{-}16,7$] vs $7,6$ [$3,6\text{-}13,5$]; $p=0,021$) y mayor frecuencia de resistencia insulínica (**figura 13**) ($33,1\%$ vs $21,1\%$; OR: 1,9; IC95%: 1,0-3,6; $p=0,05$).

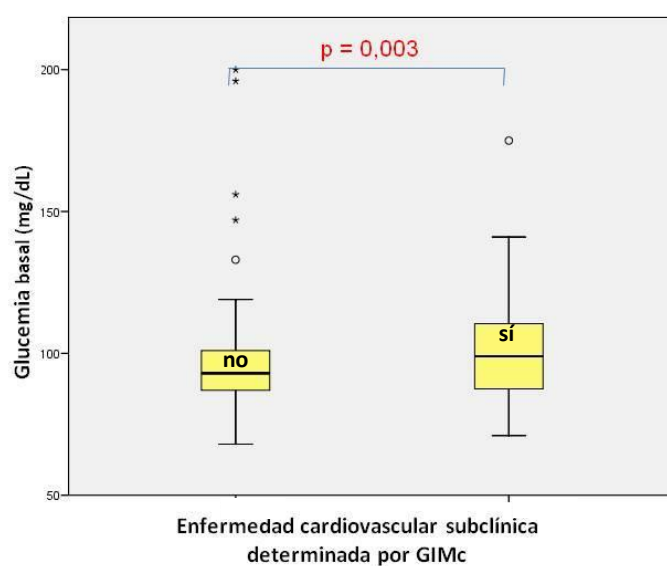


Figura 10. Diagrama de cajas. Niveles de glucemia en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.

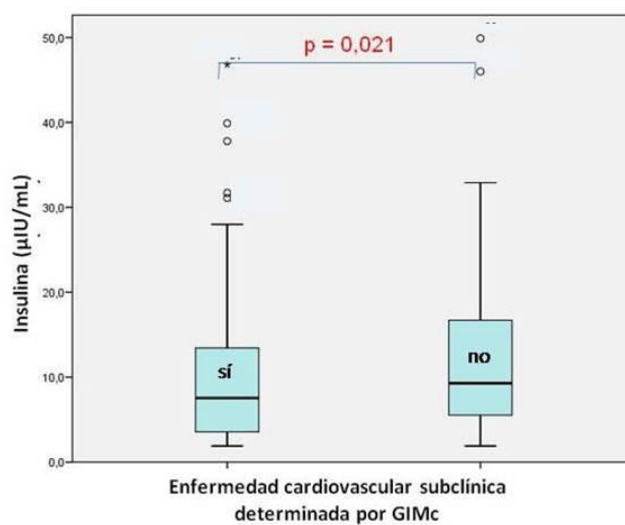


Figura 11. Diagrama de cajas. Niveles de hemoglobina glicosilada en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.

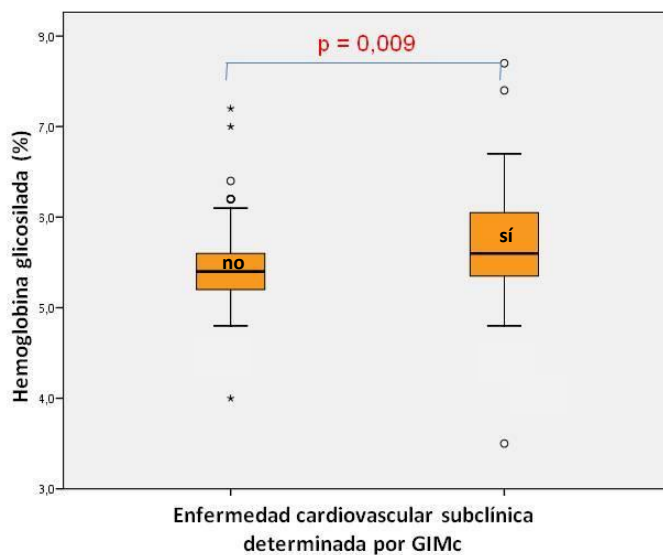


Figura 12. Diagrama de cajas. Niveles de insulina en ayunas en función de la presencia o no de ECVs.

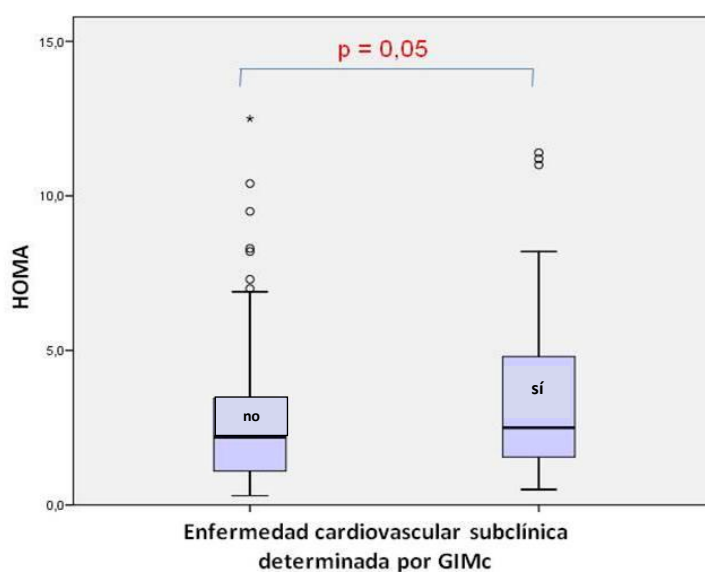


Figura 13. Diagrama de cajas. Grado de resistencia insulínica según el coeficiente HOMA en función de la presencia o no de ECVs.

No hubo diferencias en cuanto al perfil lipídico entre los dos grupos del estudio: colesterol, cHDL, cLDL, triglicéridos, apolipoproteína A, apolipoproteína B ni lipoproteína(a).

Las diferencias encontradas entre ambos grupos en los parámetros de función renal, se desarrollan más adelante, en el **capítulo 10** de esta sección.

Respecto a los marcadores de inflamación y trombosis, los pacientes con ECVs se caracterizaron por presentar niveles superiores de PCR ($\geq p50$ (1,6 mg/L) 59% vs 43,5%; OR: 1,8; IC95%: 1,0-3,4); CK-MB (**figura 14**) ($\geq p50$ [1,9 ng/dL] 53,5% vs 38,9%; OR: 1,8; IC95%: 1,0-3,7); Dímeros-D (**figura 15**) ($> p75$ [333 ng/mL]) (53,5% vs 38%, OR = 1,5 [IC95% = 1,1-4,5) y NT-proBNP (**figura 16**) ($> p75$ [72,6 pg/mL]) (33,3% vs 19,7%;

OR = 2,0 [IC95% 1,0-4,1). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles de IL-6, LpPLA-2, Fibrinógeno, Homocisteína ni en la proporción de sujetos con la variable combinada LpPLA2 y/o PCR elevadas. Los niveles de LpPLA2 estaban aumentados por encima del valor de referencia (235 ng/mL) en el 39,3% de los individuos, sin encontrarse diferencias en la frecuencia de ECVs entre ambos grupos (37,8% vs 39,8%, OR 0,9 [0,4-2,0]; $p=0,833$).

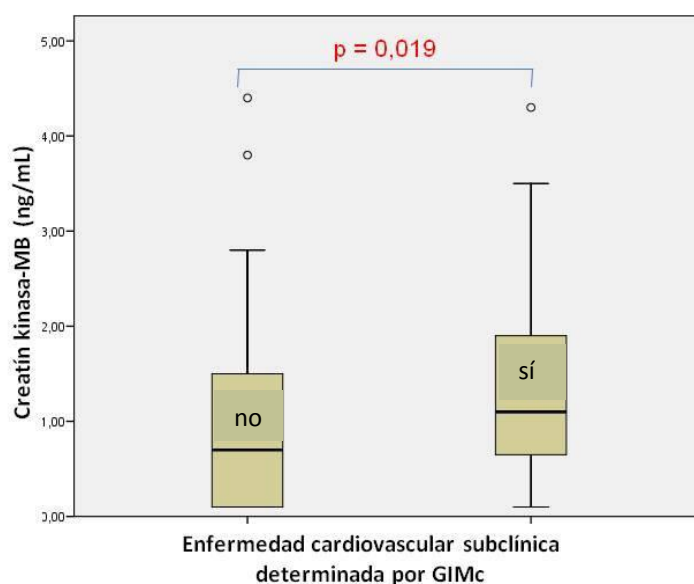


Figura 14. Diagrama de cajas. Niveles de Creatin kinasa-MB en función de la presencia o no de ECVs determinada por GIMc.

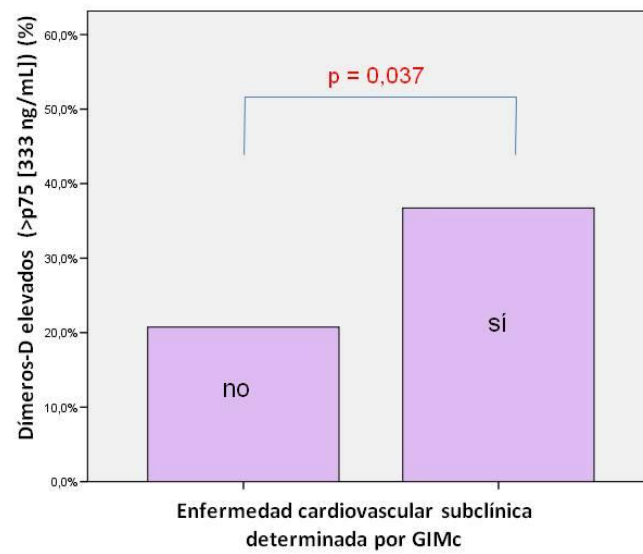


Figura 15. Diagrama de barras. Porcentaje de sujetos con valores de Dímeros-D elevados por encima del percentil 75 (333 ng/mL) en función de la presencia o no ECVs determinada por GIMc.

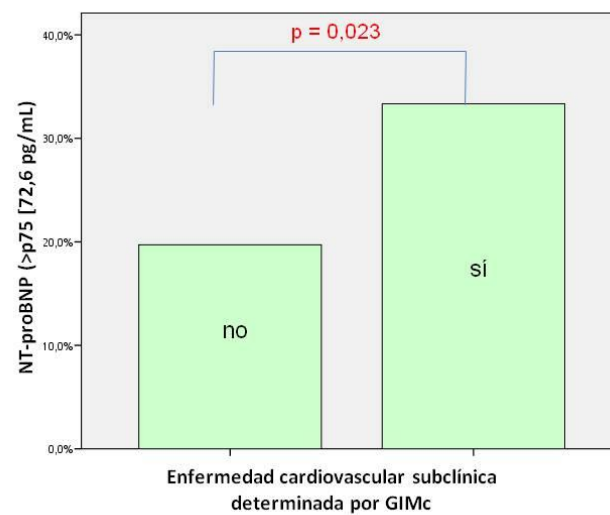


Figura 16. Diagrama de barras. Porcentaje de sujetos con valores de NT-proBNP elevados por encima del percentil 75 (72,6 pg/mL) en función de la presencia o no ECVs determinada por GIMc.

3. ANÁLISIS MULTIVARIADO PARA LAS VARIABLES RELACIONADAS CON LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA

Para el análisis multivariado se censuró la muestra por valores perdidos, tras lo que se seleccionaron 231 sujetos. Se ajustó un modelo de regresión logística (variable dependiente presencia de enfermedad cardiovascular subclínica), introduciendo en el modelo aquellas variables que en el análisis univariado fueron estadísticamente significativas y/o clínicamente relevantes (variables relacionadas con FRCV, variables relacionadas con la infección por VIH y niveles de biomarcadores). Se incluyeron en el modelo de las siguientes variables:

- Edad: categorizada por la mediana = 46 años
- Sexo
- Hipertensión arterial
- Diabetes mellitus tipo 1 y 2
- Duración de la infección por VIH: categorizada por la mediana = 10 años
- Interacción entre edad y tiempo de evolución del VIH
- Tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN: categorizado por el p75 = 247 meses
- Tiempo de tratamiento acumulado ITINAN: categorizados por el p75 = 67 meses
- Recuento de linfocitos CD4: categorizados por el punto de corte prefijado de 250 cél/mL
- Niveles de PCR: categorizados por la mediana: 1,6 mg/L

Para la selección de las variables relacionadas con el VIH a introducir en el modelo, se realizó previamente un modelo solo con este subconjunto de variables. Se introdujeron los años de evolución del VIH categorizados por la mediana, cada una de las variables de tiempo de tratamiento categorizadas por el percentil 75 y los niveles de CD4. Se seleccionaron de este modelo las variables que presentaron un nivel de significación $<0,20$. Se excluyó entonces el tiempo de tratamiento con IP por no cumplir el criterio de significación estadística, y finalmente se incluyeron en el modelo las siguientes variables relacionadas con la infección por VIH: tiempo de evolución del VIH, recuento de linfocitos CD4, tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN e ITINAN.

Previo al análisis multivariado, se realizó un análisis estratificado evaluando la interacción de la edad (categorizada por la mediana) con cada una de las variables a incluir en el modelo. En el análisis bivariado, se observó una modificación del efecto significativa ($p=0,030$) entre la edad y los años de evolución del VIH. La presencia de una evolución de VIH ≥ 10 años, en el grupo con edad inferior o igual a 46 años, se relacionó de manera significativa con la presencia de ECVs (OR: 3,6; IC95%: 1,2-10,7; $p=0,022$), mientras que el grupo de sujetos con edad mayor a 46 años no se identificó dicha relación (OR: 0,8; IC 95%: 0,4-1,8; $p=0,641$). Del mismo modo, la presencia de una edad ≥ 46 años, se relacionó en el grupo con tiempo de evolución inferior o igual a 10 años con la presencia de ECVs (OR: 9,3; IC95%: 3,4-25,6; $p<0,001$), mientras que en el grupo de sujetos con tiempo de evolución superior a 10 años no se identificó dicha relación (OR: 2,2; IC95%: 0,7-15,1; $p=0,08$). La correlación entre la edad y el tiempo de evolución del VIH fue débil (Rho de Spearman = 0,320, $p < 0,001$).

La **tabla 14** muestra los resultados del análisis multivariado introduciendo en el modelo la interacción entre la edad y la evolución del VIH. Los factores que se relacionaron de manera independiente con la presencia de ECVs fueron: edad, tiempo de evolución de la infección por VIH y recuento de linfocitos CD4. Los pacientes con recuento de CD4 menor de 250 células/mL presentaron casi el triple de riesgo de ECVs (OR: 2,8; IC95: 1,0-8,3, $p = 0,048$).

Tabla 14. Modelo de regresión logística para las variables relacionadas con la presencia de ECVs

	Odds Ratio	IC95%	p
Edad > 46 años*	6,6	2,2-19,5	0,001
Sexo	2,1	0,7-6,2	0,202
Años VIH >10**	3,4	1,03-11,0	0,044
Diabetes	2,2	0,8-6,2	0,130
HTA	0,9	0,4-2,2	0,876
Hipertrigliceridemia	1,6	0,8-3,2	0,185
Linfocitos CD4<250	2,8	1,0-8,3	0,048
Tiempo en ITIAN	1,5	0,6-3,6	0,341
Tiempo en ITINAN	1,2	0,5-2,8	0,640
PCR > 1,6 mg/L	1,7	0,9-3,3	0,134
Tiempo en ITINAN	1,2	0,5-2,8	0,640
Edad*años VIH			0,030
*efecto de la edad en categoría de VIH ≤ 10 años			
** Efecto de evolución de VIH en edad <46 años			

En cuanto a la interacción entre edad y tiempo de evolución del VIH, se mantuvo la interacción demostrada en el análisis bivariado. En el grupo de pacientes más jóvenes (edad <46 años), una mayor antigüedad de la infección por VIH condicionó la presencia de aterosclerosis subclínica (OR 3,4; IC95% 1,1-11; $p = 0,044$). Sin embargo, este efecto del VIH desapareció en el grupo de individuos de mayor edad (≥ 46 años), en los que el aumento del GIMc pareció condicionado esencialmente por la mayor edad (OR: 0,7;

IC95%: 0,2-1,8; $p = 0,41$). Por otro lado, la edad mayor o igual a 46 años, en los pacientes con menor tiempo de evolución del VIH (inferior a 10 años), se relacionó con la ECVs (OR: 6,6; IC95%: 2,2-19,5; $p = 0,001$). Sin embargo, no se apreció este efecto en el grupo de mayor tiempo de evolución del VIH (OR: 1,3; IC95%: 0,7-3,5; $p = 0,625$).

4. CONCORDANCIA ENTRE LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA DETERMINADA POR ECOGRAFÍA CAROTÍDEA Y LA PREDICCIÓN BASADA EN LOS MODELOS SCORE Y FRAMINGHAM

A continuación se estudió la capacidad predictiva para el desarrollo de eventos cardiovasculares de los modelos multivariados SCORE (**tabla 15**) y Framingham (**tabla 16**).

Dado que uno de los objetivos del trabajo era comparar ambos modelos predictivos en los pacientes con infección por VIH, para este análisis se seleccionaron solo aquellos sujetos con todas las variables recogidas para el cálculo de dichos modelos. Tras censurar la muestra por los casos perdidos, se seleccionaron 231 sujetos para este análisis.

El modelo Framingham clasificó como RCV bajo a 172 sujetos, de los cuales 35 (20,3%) presentaron ECVs determinado mediante el GIMc (**tabla 15**). Del mismo modo predijo ECVs en 59 individuos; sin embargo, se demostró ECVs en 64 sujetos del total de la muestra. De los 59 sujetos a los que el modelo de Framingham clasificó como de RCV alto, solo se demostró ECVs en 29 de estos sujetos. La concordancia entre el RCV predicho según Framingham y la presencia de ECVs medida con el índice kappa fue baja, con una correlación positiva débil estadísticamente significativa ($\text{kappa} = 0,280$, $\text{Rho de Spearman} = 0,377$; $\text{AUC } 0,637 [0,553-0,721]$; $p < 0,001$).

Tabla 15. Concordancia entre el modelo FRAMINGHAM y la presencia ECVs determinada por ecografía carotídea

RCV según FRAMINGHAM	Ausencia de ECVs	Presencia de ECVs	Total	Kappa	Rho de Spearman	ABC	p
Bajo (<10%)	137 (79,7%)	35 (20,3%)	172	0,280	0,377	0,637	<0.001
Alto (≥10%)	30 (50,8%)	29 (49,2%)	59			(0,553-0,721)	
Total	167	64	231				

Por otra parte, el modelo SCORE clasificó como RCV bajo a 188 sujetos, de los cuales 38 (24,1%) presentaron ECVs determinado mediante el GIMc (**tabla 16**). El modelo SCORE predijo ECVs en 43 pacientes; sin embargo, la ecografía carotídea demostró ECVs en 64 pacientes del total de la muestra. De los 43 sujetos en los que el modelo SCORE predijo ECVs, se demostró solo en 29 pacientes. La concordancia entre el RCV predicho según SCORE y la presencia de ECVs determinada por GIMc fue también baja, con una correlación positiva débil estadísticamente significativa (kappa = 0,339; Rho de Spearman = 0,358; AUC 0,652 [0,567-0,737]; $p < 0,001$).

Tabla 16. Concordancia entre el modelo SCORE y la presencia de ECVs por ecografía carotídea

RCV según SCORE	Ausencia de ECVs	Presencia de ECVs	Total	Kappa	Rho de Spearman	ABC	p
Bajo (<5%)	150 (75,9%)	38 (20,2%)	188	0,339	0,358	0,652	<0.001
Alto (≥5%)	17 (39,5%)	26 (60,5%)	43			(0,567-0,737)	
Total	167	64	231				

Cuando comparamos la capacidad predictiva de ambos modelos para la presencia de ECVs (**figura 17**), las diferencias entre los modelos Framingham y SCORE en la proporción de pacientes mal diagnosticados como RCV bajo fue similar (20,3% vs 20,2%), si bien las diferencias entre las respectivas concordancias no fueron significativas ($\kappa = 0,280$ vs $0,339$, $p=0,584$). Existe buena concordancia, estadísticamente significativa, entre ambos modelos (**tabla 17**) ($\kappa = 0,657$, $p<0,001$).

Por tanto, en nuestro estudio tanto el modelo SCORE como el de Framingham subestimaron el RCV en nuestra población de individuos infectados por el VIH. El modelo SCORE fue más algo más preciso, aunque las diferencias en el AUC entre ambos modelos no fueron estadísticamente significativas ($0,652$ vs $0,637$; $p= 0,287$).

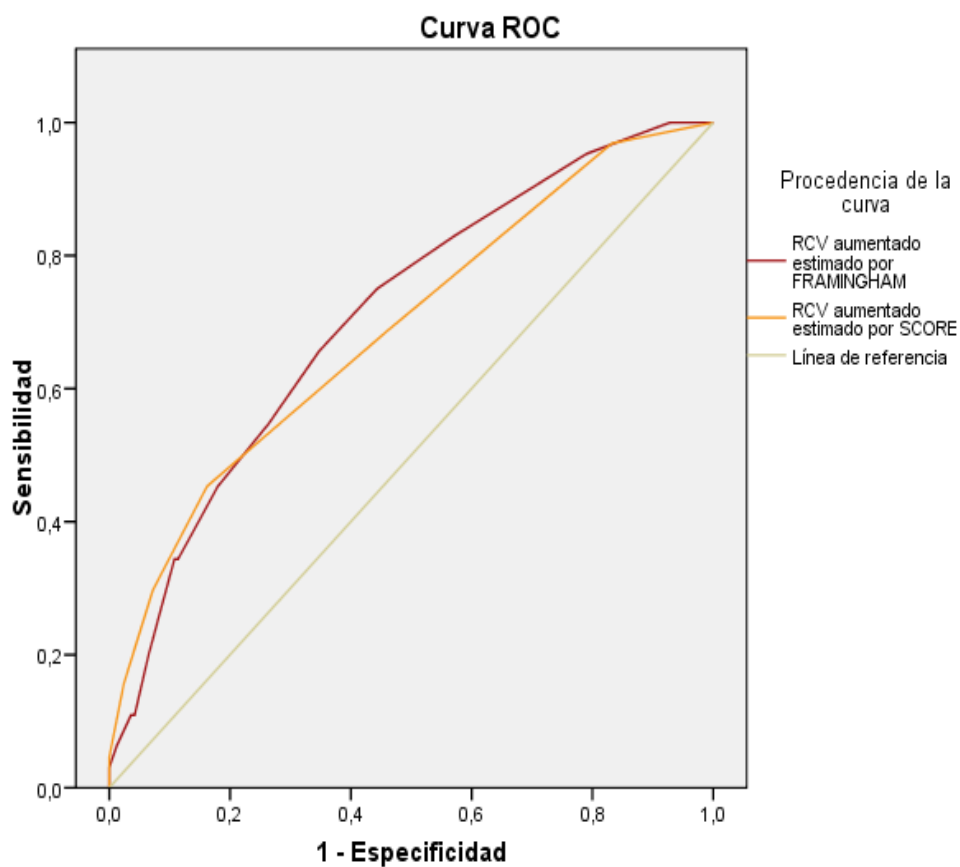


Figura 17. Área bajo la curva ROC para la presencia o no de ECVs en función de la predicción del RCV por los modelos de Framingham y SCORE

Tabla 17. Concordancia entre los modelos de Framingham y SCORE

		RCV alto estimado por SCORE		Total	Kappa	p
		No	Sí			
RCV alto estimado por FRAMINGHAM	No	167	5	172	0,657	<0,001
	Sí	21	38	59		
Total		188	43	231		

5. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON DISCORDANCIA ENTRE LA PREDICCIÓN DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA BASADA EN EL MODELO DE FRAMINGHAM Y SU PRESENCIA DETERMINADA POR ECOGRAFÍA CAROTÍDEA

Definimos como pacientes discordantes a aquellos que presentaban RCV estimado por el modelo de Framingham bajo, en los que sin embargo hallamos presencia de ECVs por ecografía carotídea. De 172 pacientes estudiados, 35 (20,3%) presentaron discordancia según esta definición. A continuación analizamos las características de los pacientes con y sin discordancia (**tabla 18**).

Algunos FRCV se relacionaron de forma estadísticamente significativa con la presencia de discordancia: la edad (años) ($48,4 \pm 7,1$ vs $41,9 \pm 7,3$; $p < 0,001$), el IMC (kg/m^2) ($24,1 \pm 2,7$ vs $23,6 \pm 2,9$; $p = 0,014$), la frecuencia de diabetes mellitus (OR: 6,3; IC95%: 1,0-39,5) y de hipertensión arterial (OR: 3,7; IC95%: 6,3-39,5). De los factores relacionados con el VIH, se asociaron con discordancia el hecho de encontrarse en TARGA (OR: 1,3; IC95%: 1,2-1,4), el tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN ($\geq p50$: 106 meses) (OR: 2,2; IC95%: 1,0-4,9; $p = 0,039$) y con IP ($\geq p50$: 24 meses) (OR: 3,5; IC95%: 1,7-7,9; $p = 0,002$). El recuento de CD4 superior a 250 células/mL, se asoció de forma inversamente proporcional con la presencia de discordancia (OR: 0,3; IC95%: 0,1-0,8), o lo que es lo mismo, los pacientes más inmunodeprimidos presentaron discordancia más frecuentemente. De todos los biomarcadores estudiados, se asociaron con la presencia de discordancia el cociente albúmina/creatinina por encima de la mediana (OR: 8,3; IC95%: 2,3-29,8) y el filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI ($\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$) ($98,9 \pm 9,3$ vs $94,7 \pm 6,6$, $p = 0,003$).

Tabla 18. Características de los pacientes con discordancia entre el riesgo predicho por el modelo de Framingham y la presencia de ECVs determinada por GIMc.

	Sin discordancia %	Discordancia %	Medida de efecto	P
N = 172	79,6	20,4		
Edad (años)*	41,9 (7,3)	48,4 (7,1)	6,5 (-3,7;9,9)]	<0,001
Varones ♂	81,8	85,7	0,7 (0,3-2,1)	0,581
IMC (kg/m²)*	23,6 (2,9)	24,1 (2,7)	0,5 (0,5;1,6)	0,014
Cintura (cm)*	86,2 (10,4)	90 (8,9)	3,8(-0,2;7,7)	0,063
Fumador ♂	43,1	45,7	1,1 (0,5-2,3)	0,849
Diabetes ♂	1,5	8,6	6,3 (1,01-39,5)	0,058
Hipertensión arterial♂	7,3	22,9	3,7 (1,4-10,4)	0,013
Síndrome metabólico ♂	7,4	18,8	2,9 (0,94-8,8)	0,088
Lipodistrofia ♂	22,1	38,2	2,1(1,0-4,9)	0,078
Carga viral >50 cop/mL ♂	29,9	17,1	0,5 (0,2-1,2)	0,094
CD4 >250cél/mL ♂	91,9	77,1	0,3 (0,1-0,8)	0,029
En TARGA ♂	84,7	100	1,3 (1,2-1,4)	0,013
Duración infección VIH (años) ¥	9 (3-16)	14 (6-20)		0,029
Duración ITIAN (meses) ¥	92 (96-193)	186 (72-259)		0,006
Duración ITINAN (meses) ¥	17 (0-40)	21 (0-47)		0,616
Duración IP (meses) ¥	0 (0-86,3)	48 (22-92)		0,001
Creatinina (mg/dL)*	1,0 (0,16)	1,0 (0,14)	0,01(-0,07;0,05)	0,706
Cistatina C (mg/dL)*	0,79 (0,17)	0,78 (0,14)	0,01[(-0,1;0,06)	0,920
Cl Cr (mL/min)*	98,9 (9,3)	94,7 (6,6)	-4,2(-7,6;-1,0)	0,003
Albúmina/creatinina (mg/g) §	3,4 (2,5-5,9)	5,8 (3,3-12,3)		0,018
Perfil lipídico				
Colesterol (mg/dL)*	180,9 (40,6)	182 (40,3)	1,1 (-14,2;16,2)	0,895
cHDL (mg/dL)*	51,0 (13,2)	52,5 (13,1)	1,5(-3,7;6,2)	0,895
cLDL (mg/dL)*	103 (34,2)	100,3 (40,4)	-2,7 (-15,0;10,3)	0,624
Hipertrigliceridemia ♂	35	51,4	2,0 (0,93-4,2)	0,083
Marcadores de inflamación/trombosis				
Proteína C reactiva (mg/L) §	0,14 (0,06-0,32)	0,14 (0,05-0,48)		0,873
Interleukina-6 (pg/mL) ¥	1,9 (1,9-2,3)	1,9 (1,9-3,2)		0,784
LpPLA-2 (ng/mL) *	238,1 (80,9)	238,2 (75,7)	0,1 (-36,5;36,7)	0,996
Fibrinógeno (mg/dL) *	315,7 (72,2)	326,4 (89,4)	10,7 (-20,1;41,5)	0,493
Homocisteína (μmol/L) ¥	10,4 (8,3-12,7)	11,2 (9,4-12,2)		0,175
Dímeros-D (ng/mL) ¥	182,5 (95,8-317,3)	166 (61,5-337,5)		0,441
CK-MB (ng/mL) ¥	0,65 (0,1-1,5)	0,9 (0,5-1,6)		0,252
NT-proBNP (pg/mL) ¥	35 (19-67,5)	28 (19,5-66,5)		0,972
Coinfección por VHC ♂	30,6	39,4	1,4 (0,7-3,3)	0,226
<p>* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95%</p> <p>♂ Prueba de Chi cuadrado. Medida de efecto: OR (IC95%)</p> <p>§ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05)</p> <p>¥ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de Mann-Whitney. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05).</p>				

Para el análisis multivariado se censuró la muestra por valores perdidos, tras lo que se seleccionaron 172 sujetos. Se ajustó un modelo de regresión logística (variable dependiente presencia de ECVs), introduciendo en el modelo aquellas variables que en el análisis univariado fueron estadísticamente significativas y/o clínicamente relevantes (variables relacionadas con FRCV, variables relacionadas con la infección por VIH y niveles de biomarcadores). Se incluyeron en el modelo de las siguientes variables: edad (categorizada por la mediana = 46 años); hipertensión arterial; duración de la infección por VIH (categorizada por la mediana = 10 años); tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN (categorizado por el p75 = 247 meses); tiempo de tratamiento acumulado IP (categorizados por la mediana = 24 meses); recuento de linfocitos CD4 (categorizados por el punto de corte prefijado de 250 cél/mL).

Tras el análisis multivariado, se asociaron a discordancia la presencia de hipertensión arterial (OR: 4,0; IC95% 1,2-13) y el tiempo de exposición a IP (OR: 1,4-9,0).

Tabla 19. Modelo de regresión logística para las variables relacionadas con la presencia de discordancia con el modelo de Framingham

	Odds Ratio	IC95%	p
Edad >46 años	1,7	0,7-4,1	0,204
Años de infección VIH >10	0,7	0,3-1,9	0,499
Hipertensión arterial	4,0	1,2-13,0	0,020
Linfocitos CD4<250 cél/mL	2,6	0,8-8,3	0,111
Tiempo en ITIAN (>247 meses)	2,5	0,8-7,4	0,111
Tiempo en IP (>24 meses)	3,5	1,4-9,0	0,009
<i>ITIAN: análogos de timidínicos; IP: inhibidores de la proteasa</i>			

6. PREDICCIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA INFECCIÓN POR VIH AJUSTANDO EL MODELO DE FRAMINGHAM

La mayor parte de los trabajos hasta la actualidad sugieren, como hemos visto, que el RCV en los pacientes con VIH se halla incrementado por factores adicionales a los FRCV clásicos, como son el efecto directo del VIH, la inmunodepresión, la inflamación crónica y los fármacos antirretrovirales.

Por tanto, postulamos que al incluir en el modelo de Framingham dichas variables mejoraría la capacidad predictiva del modelo. Para ello, seleccionamos una a una las variables del estudio relacionadas con el VIH y, posteriormente, las incorporamos a la ecuación de Framingham mediante modelos de regresión logística binaria, para seleccionar finalmente el modelo con mejor capacidad predictiva (**tabla 20**).

Ya hemos visto cómo el modelo de Framingham presentó un AUC = 0,637 (0,553-0,721), con una sensibilidad del 45,3% y una especificidad del 82%.

Tabla 20. Capacidad predictiva y clasificación de los sujetos mediante regresión logística del modelo de Framingham al añadir diferentes variables relacionadas con el VIH.

Predictor	AUC	Δ AUC	p	S (%)	E (%)
Framingham	0,637 (0,553-0,721)		<0,001	45,3	82
Framingham + antigüedad VIH	0,693 (0,618-0,768)	8,8%	<0,001	56,3	73,3
Framingham + ITIAN	0,707 (0,634-0,780)	11,0%	<0,001	66,7	67,1
Framingham+ análogos timidínicos	0,687 (0,609-0,765)	7,8%	<0,001	57,1	73,1
Framingham + ITINAN	0,637 (0,55-0,721)	0%	0,001	57,1	68,8
Framingham + IP	0,689 (0,617-0,762)	8,2%	0,001	44,4	81,3
Framingham + CD4>250	0,671 (0,590-0,752)	5,3%	<0,001	45,3	81,9
Framingham + lipodistrofia	0,610 (0,525-0,695)	-4,2%	<0,001	66,1	64,2
Framingham + antigüedad VIH + CD4>250 + ITIAN + IP	0,731 (0,654-0,799)	14,8%	<0,001	69,8	67,7
Framingham + antigüedad VIH + CD4>250 + ITIAN	0,730 (0,660-0,800)	14,6%	<0,001	66,7	69,2
Framingham + CD4>250 + ITIAN + IP	0,727 (0,655-0,798)	14,1%	<0,001	65,1	67,9
Framingham + CD4>250 + ITIAN	0,730 (0,660-0,800)	14,6%	<0,001	63,5	70,6
<i>AUC: área bajo la curva ROC; Δ AUC: incremento porcentual sobre el AUC; S: sensibilidad; E: especificidad CD4>250: linfocitos CD4 >250 células/mL ITIAN, análogos de timidínicos, ITINAN e IP utilizadas como variables continuas IP categorizada por la mediana (24 meses)</i>					

Tras explorar diferentes modelos, encontramos el máximo incremento en la capacidad predictiva del Framingham al incluir en el modelo inicial únicamente el recuento de linfocitos CD4 y el tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN, con un aumento del AUC respecto al modelo de Framingham inicial del 14,6% (AUC 0,730 [0,660-0,800], S= 63,5% y E = 70,6%).

La diferencia en el AUC entre el modelo obtenido al incorporar el recuento de linfocitos CD4 y el tiempo en ITIAN al Framingham respecto al modelo inicial fue estadísticamente significativa (0,730 vs 0,637, p= 0,037)

7. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON DISCORDANCIA ENTRE LA PREDICCIÓN DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA BASADA EN EL MODELO SCORE Y SU PRESENCIA DETERMINADA POR ECOGRAFÍA CAROTIDEA

Al igual que hicimos con el modelo de Framingham, estudiamos el patrón de discordancia entre el modelo SCORE y la presencia de ECVs determinada por GIMc, definiendo como pacientes discordantes a aquellos que presentaban RCV estimado por el modelo de SCORE bajo (<5%) pero con presencia de ECVs por ecografía carotidea. De 188 pacientes con riesgo bajo, 38 (el 20,2%) presentaron discordancia según esta definición. A continuación analizamos las características de los pacientes con y sin discordancia (**tabla 21**). Las asociaciones son superponibles a las encontradas al analizar la relación entre la presencia de discordancia evaluada por el modelo de Framingham y la presencia de ECVs.

Algunos FRCV se relacionaron de forma estadísticamente significativa: la edad (años) ($49,1 \pm 8,1$ vs $46,3 \pm 11,7$; $p < 0,001$), el perímetro de cintura (cm) ($91,2 \pm 8,5$ vs $86,6 \pm 10,2$; $p = 0,015$), la frecuencia de hipertensión arterial (OR: 2,6; IC95%: 1,5-6,5) y síndrome metabólico (OR = 3,4; IC95% = 1,2-9,8).

De los factores relacionados con el VIH, se asociaron con discordancia la lipodistrofia (OR: 2,7; IC95%: 1,3-5,8), el hecho de encontrarse en TARGA (OR: 1,2; IC95%: 1,1-1,3), el tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN ($\geq p50$: 106 meses) (OR: 2,1; IC95%: 1,0-4,6), con análogos y con IP (las diferencias fueron significativas por la prueba de la mediana, pero IC95% calculado al categorizar por la mediana no alcanzó significación

estadística; OR: 1,0; IC95%: 0,3-3,8). El recuento de CD4 superior a 250 células/mL, se asoció de forma inversamente proporcional con la presencia de discordancia (OR = 0,3; IC95% = 0,1-0,8), o lo que es lo mismo, los pacientes más inmunodeprimidos presentaron discordancia más frecuentemente.

De todos los biomarcadores estudiados, se asociaron con discordancia el cociente albúmina/creatinina por encima de la mediana (OR = 8,3; IC95% = 2,3-29,8) y el filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI (OR: 4,3; IC95%: 1,5-7).

Para el análisis multivariado, se siguieron los mismos pasos anteriormente efectuados para la elaboración del análisis multivariado con el modelo de Framingham. Se censuró la muestra por valores perdidos, tras lo cual se seleccionaron 172 sujetos. Se ajustó un modelo de regresión logística (variable dependiente presencia de ECVs), introduciendo en el modelo aquellas variables que en el análisis univariado fueron estadísticamente significativas y/o clínicamente relevantes (variables relacionadas con FRCV, variables relacionadas con la infección por VIH y niveles de biomarcadores). Se incluyeron en el modelo de las siguientes variables: edad (categorizada por la mediana = 46 años); hipertensión arterial; duración de la infección por VIH (categorizada por la mediana = 10 años); tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN (categorizado por el p75 = 247 meses); tiempo de tratamiento acumulado IP (categorizados por la mediana = 24 meses); recuento de linfocitos CD4 (categorizados por el punto de corte prefijado de 250 células/mL).

Tabla 21. Características de los pacientes con discordancia entre el riesgo predicho por el modelo SCORE y la presencia de ECVs determinada por GIMc.

	Sin discordancia %	Discordancia %	Medida de efecto	P
N = 188	79,8	20,2		
Edad (años)*	46,3 (11,7)	49,1 (8,1)	6,7 (-3,5;10)	<0,001
Varones ¤	82,7	86,8	0,7 (0,3-2,0)	0,536
IMC (kg/m²)*	23,5 (2,7)	24,3 (2,3)	0,18 (-0,2;0,2)	0,111
Cintura (cm)*	86,6 (10,2)	91,2 (8,5)	4,6 (-0,48,6)	0,015
Fumador ¤	43,3	47,4	1,2 (0,6-2,4)	0,655
Diabetes ¤	0,7	2,6	4,0 (0,2-65,9)	0,292
Hipertensión arterial ¤	10,7	23,7	2,6 (1,5-6,5)	0,035
Síndrome metabólico ¤	6,7	19,4	3,4 (1,2-9,8)	0,019
Lipodistrofia ¤	23,6	45,9	2,7(1,3-5,8)	0,007
Carga viral >50 cop/mL ¤	28,7	21,1	0,7 (0,3-1,7)	0,346
CD4 >250cél/mL ¤	91,9	78,9	0,3 (0,1-0,8)	0,021
En TARGA ¤	86	100	1,2 (1,1-1,3)	0,014
Duración infección VIH (años) ¥	9 (3-16)	10,5 (5,75-18,5)		0,089
Duración ITIAN (meses) ¥	94,5 (28-196,25)	171 (68-255,5)		0,004
Duración ITINAN (meses) ¥	17 (0-40)	21 (0-57)		0,634
Duración IP (meses) ¥	8 (0-91)	44 (7-92)		0,031
Creatinina (mg/dL)*	1,1 (0,16)	1,0 (0,13)	0,01 (-0,05;-0,1)	0,468
Cistatina C (mg/dL)*	0,79 (0,17)	0,78 (0,14)	0,01 (-0,06;-0,1)	0,852
FG (mL/min)*	98,2 (9,4)	93,7 (6,8)	-4,5(-7,2;-1,9)	0,001
Albúmina/creatinina (mg/g) §	3,3 (2,5-5,9)	6,4 (3,4-13)		0,039
Perfil lipídico				
Coolesterol (mg/dL)*	187,3 (41,1)	187,6 (39,7)	0,3 (-14,1;16,2)	0,815
cHDL (mg/dL)*	49,8 (12,3)	50,8 (13,5)	1,0 (-3,7;6,2)	0,967
cLDL (mg/dL)*	106,1 (33,9)	106,6 (31,3)	0,5 (-15,8;10,3)	0,887
Hipertrigliceridemia (%)¤	36,7	52,6	1,9 (0,9-3,9)	0,095
Marcadores de inflamación/trombosis				
Proteína C reactiva (mg/L) §	0,14 (0,06-0,35)	0,17 (0,05-0,48)		0,504
Interleukina-6 (pg/mL) ¥	1,9 (1,9-2,8)	1,9 (1,9-3,6)		0,963
LpPLA-2 (ng/mL) *	238,3 (80,1)	236,7 (74,4)	-1,6 -36,9;41,2)	0,931
Fibrinógeno (mg/dL) *	316,1 (73,7)	328 (85,4)	11,9 (-17,4;41,2)	0,423
Homocisteína (µmol/L) ¥	10,7 (8,6-13)	10,7 (9,3-12,0)		0,893
Dímeros-D (ng/mL) ¥	180 (92,5-321,5)	166 (59,8-345,8)		0,718
CK-MB (ng/mL) ¥	0,7 (0,1-1,5)	0,9 (0,5-1,4)		0,377
NT-proBNP (pg/mL) ¥	36 (19,3-66,8)	28 (18,8-58,3)		0,478
Coinfección por VHC ¤	29,4	37,1	1,4 (0,7-3,1)	0,378

* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95%

¤ Prueba de Chi cuadrado. Medida de efecto: OR (IC95%)

§ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05)

¥ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de Mann-Whitney. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana (en caso de p<0,05).

Tras el análisis multivariado, diferentes variables relacionadas con el VIH se asociaron con la presencia de discordancia para el modelo SCORE, acercándose al límite de la significación estadística: presencia de inmunodepresión (CD4 <250 células/mL) (OR: 2,7; IC95%: 0,9-8,1; $p = 0,069$), el tiempo en ITIAN (>p75: 247 meses) (OR: 2,6; IC95%: 0,9-7,4; $p = 0,080$) y el tiempo en IP (>p50: 24 meses) (OR: 2,1; IC95%: 0,9-4,8; $p = 0,074$).

Tabla 22. Modelo de regresión logística para las variables relacionadas con la presencia de discordancia con el modelo SCORE

	Odds Ratio	IC95%	p
Edad >46 años	1,8	0,8-4,1	0,146
Años de infección VIH >10	0,6	0,3-1,7	0,375
Hipertensión arterial	1,8	0,6-5,1	0,255
Linfocitos CD4 <250 células/mL	2,7	0,9-8,1	0,069
Tiempo en ITIAN (>247 meses)	2,6	0,9-7,4	0,080
Tiempo en IP (>24 meses)	2,1	0,9-4,8	0,074
<i>ITIAN: análogos de timidínicos; IP: inhibidores de la proteasa</i>			

8. PREDICCIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA INFECCIÓN POR VIH AJUSTANDO EL MODELO SCORE

Al igual que hicimos con el modelo de Framingham, procedimos a incluir en el modelo SCORE variables relacionadas con el VIH con el fin de estudiar los cambios en la capacidad predictiva del modelo. De nuevo seleccionamos una a una las variables relacionadas con el VIH y, posteriormente, las incorporamos a la ecuación SCORE mediante modelos de regresión logística binaria, para seleccionar finalmente el modelo con mejor capacidad predictiva (**tabla 23**).

El modelo SCORE presentó un AUC = 0,652 (0,567-0,737), un 2,4% superior a la obtenida con el modelo de Framingham; con una sensibilidad del 40,6% y una especificidad del 89,8%. De manera similar a lo obtenido al estudiar el modelo de Framingham, tras explorar diferentes variaciones sobre el modelo SCORE, comprobamos cómo el mayor aumento del AUC (+16,1%) se alcanzaba de la manera más sencilla al incluir en el modelo dos variables relacionadas con el VIH: recuento de linfocitos CD4 y meses de tratamiento acumulado con ITIAN (AUC 0,757 [0,688-0,827], S = 58,5%, E = 79,4%).

Tabla 23. Capacidad predictiva y clasificación de los sujetos mediante regresión logística del modelo de SCORE al añadir diferentes variables relacionadas con el VIH.

Predictor	AUC (IC95%)	Δ AUC	p	S (%)	E (%)
SCORE	0,652 (0,567-0,737)		<0,001	40,6	89,8
SCORE + antigüedad VIH	0,705 (0,628-0,782)	8,1%	<0,001	51,6	80,0
SCORE + ITIAN	0,735 (0,663-0,807)	12,7%	<0,001	55,6	77,6
SCORE+ análogos timidínicos	0,708 (0,629-0,787)	8,6%	<0,001	47,6	81,3
SCORE + ITINAN	0,664 (0,579-0,749)	1,8%	<0,001	41,3	89,4
SCORE + IP	0,710 (0,636-0,784)	8,9%	<0,001	41,3	88,8
SCORE + CD4 (250)	0,688 (0,605-0,770)	5,5%	<0,001	53,1	82,5
SCORE + lipodistrofia	0,612 (0,527-0,696)	-6,1%	<0,001	67,7	69,2
SCORE + antigüedad VIH + CD4>250 + ITIAN + IP	0,752 (0,680-0,825)	15,3%	<0,001	65,1	78,9
SCORE + antigüedad VIH + CD4>250 + ITIAN	0,757 (0,686-0,828)	16,1%	<0,001	61,9	76,7
SCORE + CD4>250 + ITIAN	0,757 (0,688-0,827)	+16,1%	<0,001	58,7	79,4

AUC: área bajo la curva ROC; Δ AUC: incremento porcentual sobre el AUC; S: sensibilidad; E: especificidad
 CD4>250: linfocitos CD4 >250 células/mL
 ITIAN, análogos de timidínicos, ITINAN utilizadas como variables continuas
 IP categorizada por la mediana (24 meses)

La diferencia hallada en el AUC entre el modelo original y el obtenido al incorporar el recuento de linfocitos CD4 y el tiempo en ITIAN estadísticamente significativa (0,757 vs 0,637, $p=0,041$).

Si bien al incorporar estas nuevas variables a los modelos, se obtuvo mejor AUC con el modelo SCORE respecto al Framingham, no pudimos demostrar superioridad de un modelo frente al otro para la predicción de la ECVs (AUC [SCORE+CD4+ITIAN]= 0,757 vs AUC[Framingham+CD4+ITIAN]=0,730; $p=0,118$).

9. DETERIORO RENAL INCIPIENTE COMO MARCADOR DE DAÑO VASCULAR SUBCLÍNICO

En el análisis comparativo de los parámetros relacionados con la función renal entre los sujetos con y sin ECVs, no se hallaron diferencias en los niveles de creatinina, cistatina C, ni en el filtrado glomerular estimado por la ecuación MDRD (**tabla 24**). Sin embargo, sí se relacionó con ECVs un menor filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI ($\leq p50$ [94,3 mL/min/1,73 m²] 57,1% vs 29,2%; OR: 3,2; IC95%: 1,7-6,0; $p < 0,001$) y un mayor cociente albúmina/creatinina en orina (**figura 18**) ($\geq p50$ [5 mg/g]: 71,4% vs 37,3%; OR: 4,2; IC95%: 2,0-8,7; $p 0,013$).

Tabla 14. Niveles de distintos indicadores de función renal en función de la presencia de ECVs.

Indicador de función renal	Sin ECVs %	Presencia de ECVs %	Medida de efecto	P
Creatinina (mg/dL) *	1,1 (0,2)	1,2 (0,8)	-0.1 (-0,5;-0,01)	0,109
Cistatina C (mg/dL) *	0,8 (0,2)	0,8 (0,2)	0 (-0,1;0,02)	0,348
FG EPI (mL/min/1,73 m²) *	96,8 (10,1)	89,2 (10,7)	-7,6 (-10,6;-4,7)	<0,001
FG MDRD (mL/min/1,73 m²) *	78,5 (14,7)	74,5 (13,1)	4,0(-8;0,1)	0,006
Cociente albúmina/creatinina en orina (mg/g) §	4 (3-7)	7 (4-16)		<0,001
<p>* Expresado como media (DE). Test de la t de Student. Medida de efecto: diferencia de medias + IC95%</p> <p>§ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana. Medida de efecto expresada en el texto como OR calculado sobre la mediana</p>				

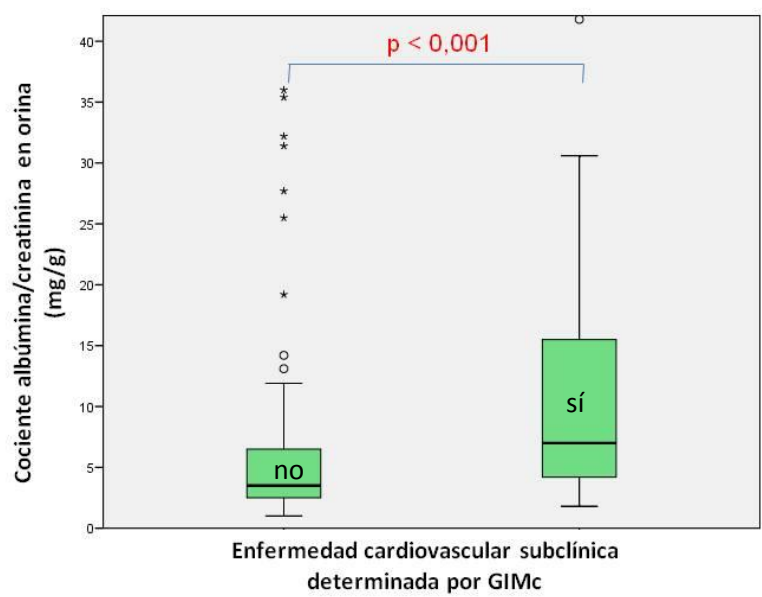


Figura 18. Diagrama de cajas. Cociente albúmina/creatinina en orina en función de la presencia o no de ECV subclínica

Existe una correlación positiva débil entre el cociente albúmina/creatinina en orina y la presencia de ECVs, con buena capacidad predictiva (**tabla 25**) (Rho de Spearman = 0,316; AUC 0,713; $p < 0,001$). La sensibilidad de esta prueba fue del 71,4% y la especificidad del 46,1% (**figura 19**).

Tabla 25. Correlación y AUC entre cociente albúmina/creatinina y presencia de ECVs determinada por GIMc.

ALBÚMINA/CREATININA	Ausencia de ECVs %	Presencia de ECVs %	Rho de Spearman	ABC	P
Albúmina/creatinina en orina < mediana (5 mg/g)	69 (62,7%)	14 (28,6%)	0,316	0,713	<0,001
Albúmina/creatinina en orina ≥ mediana (5 mg/g)	41 (37,3%)	35 (71,4%)			
Total	110 (100%)	49 (100%)			

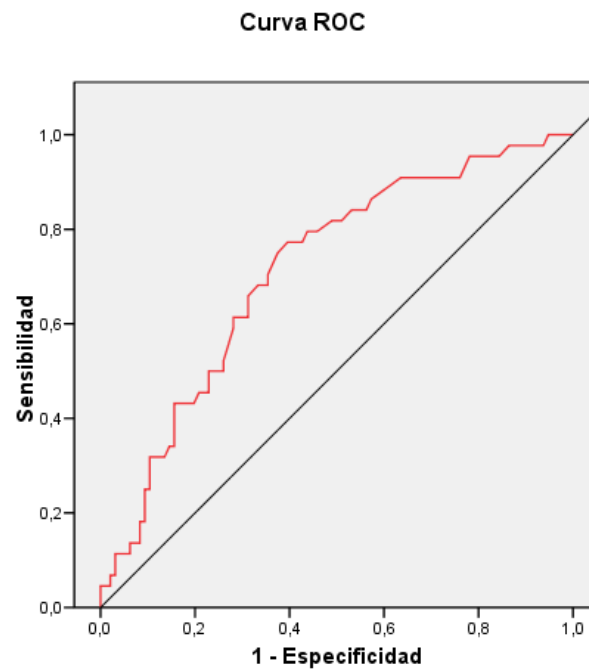


Figura 19. Área bajo la curva ROC para la presencia de ECVs en función del cociente albúmina/creatinina en orina.

En último lugar, analizamos el papel del deterioro incipiente de la función renal como marcador de ECVs. Para ello, incluimos en el análisis pacientes sin insuficiencia renal crónica conocida y creamos una variable combinada para identificar a los pacientes con deterioro renal incipiente (DRI) respecto a la función renal basal, tres años antes. Dado que en la literatura no existe una definición de DRI, se estudió la sensibilidad, especificidad y AUC de diferentes definiciones de DRI con el objeto de elegir la que presentara los mejores índices de clasificación de los sujetos. En primer lugar, se estudió el cambio porcentual en el filtrado glomerular estimado por la fórmula en un

periodo de tres años, y a continuación se crearon distintas definiciones de la variable DRI en función de los siguientes criterios:

- Descenso del filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI superior al 10% en el periodo de tres años estudiado (3,33% anual)
- Insuficiencia renal crónica estadio II: filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI inferior a 90 mL/min/1,73 m²; o
- Cociente albúmina/creatinina en orina superior o igual a la mediana (5 mg/g), a 10 mg/g y a 30 mg/g.

La **tabla 26** resume los índices de clasificación de las distintas definiciones de DRI estudiadas. Para el cálculo de esta variable, seleccionamos únicamente a los pacientes con todas las variables recogidas. Tras censurar la muestra por los valores perdidos, obtuvimos un total de 145 pacientes.

En primer lugar, se estudiaron los índices de clasificación de los pacientes con DRI, definido únicamente por alteraciones leves en el FG estimado (descenso del filtrado glomerular estimado superior al 3,33% anual y/o insuficiencia renal crónica estadio II. Posteriormente, se incorporó a esta variable diferentes grados de albuminuria: ≥ 5 mg/g (mediana de la muestra), ≥ 10 mg/g y ≥ 30 mg/g.

Tabla 26. AUC, sensibilidad, especificidad y Odds ratio para la asociación entre diferentes definiciones de deterioro renal incipiente y la presencia de aterosclerosis carotídea.

Definición de DRI	AUC	Sensibilidad	Especificidad	OR (IC95%)	P
FG<90 + FG10%	0,568	43,2	70,4	1,8 (0,8-3,7)	0,115
+Albuminuria >5 mg/g	0,645	84,1	44,9	4,3 (1,7-10,6)	0,001
+Albuminuria >10 mg/g	0,608	61,4	60,2	2,1 (1,2-4,9)	0,018
+Albuminuria >30 mg/g	0,582	50	66,3	1,9 (0,9-4)	0,067
<i>DRI: deterioro renal incipiente. FG: filtrado glomerular (estimado por la fórmula EPI); FG<90: filtrado glomerular <90 mL/min/1,73 m²; FG10%: descenso del FG superior al 10% en 3 años (3,33% anual)</i>					

La definición de DRI que mejor clasificó a los sujetos fue la siguiente:

- Descenso del filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI superior al 10% en el periodo de tres años estudiado (3,33% anual), y/o
- Presencia de insuficiencia renal crónica estadio II (filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI inferior a 90 mL/min/1,73 m²), y/o
- Cociente albúmina/creatinina en orina superior o igual a la mediana (5 mg/g).

De acuerdo con esta definición, 95 pacientes presentaron DRI, cuyas características se resumen en la **tabla 27**.

Los pacientes con DRI presentaron mayor frecuencia de ECVs (40,7% vs 13,7%; OR: 4,3; IC95%: 1,8-10,6; p = 0,001). Algunos FRCV se relacionaron de forma estadísticamente significativa: los pacientes con DRI presentaron mayor edad (años) (50,8±10 vs

40,7±7,1; $p < 0,001$), mayor perímetro de cintura (cm) (89,6±9,7 vs 85,9±9,7; $p = 0,038$), mayor frecuencia de diabetes mellitus (12,9% vs 1,9%; $p = 0,032$) y de síndrome metabólico (16,7% vs 4%; $p = 0,031$).

De los factores relacionados con el VIH, se asociaron con DRI la lipodistrofia (41,3% vs 21,6%; $p = 0,013$), el hecho de encontrarse en TARGA (96,8% vs 84,6%; $p = 0,017$), el tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN (meses) (187 [81-259] vs 104 [33-171,5]; $p = 0,001$ con ITINAN (meses) 32 [7-77] vs 20 [0-43,25]; $p = 0,043$) y con IP (42 (0-115) vs 2,5 (0-59,5); $p = 0,007$).

Ninguno de los biomarcadores séricos estudiados se asoció de manera significativa con la presencia de DRI. Al estudiar el perfil lipídico, los pacientes con DRI presentaron con mayor frecuencia hipertrigliceridemia (41,3% vs 21,6%; $p = 0,015$).

Tabla 27. Variables relacionadas con la presencia de deterioro renal incipiente

	Ausencia de deterioro renal %	Presencia de deterioro renal %	P
N = 145	35,9	64,1	
Aterosclerosis carotídea ✕	13,7	40,7	0,001
Edad (años) *	40,7 (7,1)	50,8 (10,0)	<0,001
Varones ✕	84,6	89,2	0,417
IMC (kg/m²) *	23,3 (2,6)	23,7 (2,8)	0,401
Cintura (cm) *	85,9 (9,8)	89,6 (9,7)	0,038
Fumador ✕	53,8	42,4	0,125
Diabetes ✕	1,9	12,9	0,032
Hipertensión arterial ✕	11,5	19,4	0,225
Síndrome metabólico ✕	4	16,7	0,031
Lipodistrofia ✕	21,6	41,3	0,013
Carga viral >50 cop/mL ✕	32,7	17,4	0,036
CD4 >250cél/mL ✕	92,4	84,9	0,096
En TARGA ✕	84,6	96,8	0,017
Duración infección VIH (años) ¥	8 (4-13,75)	12 (6-18)	0,010
Duración TARGA (meses) ¥	53 (17-93)	100 (46,5-146,5)	0,001
Duración ITIAN (meses) ¥	104 (33-171,5)	29 (0-83)	0,001
Duración análogos timidínicos (meses) ¥	0 (0-38)	29 (0-83)	0,003
Duración ITINAN (meses) ¥	20 (0-43,25)	32 (7-77)	0,043
Duración IP (meses) ¥	2,5 (0-59,5)	42 (0-115)	0,007
Perfil lipídico			
Colesterol (mg/dL) *	187,6 (42,9)	184,7 (40,3)	0,687
cHDL (mg/dL) *	50 (12,2)	50,1 (12,8)	0,968
cLDL (mg/dL) *	1067,5 (35,4)	105,8 (38,5)	0,805
Hipertrigliceridemia ✕	32,4	54,8	0,015
Marcadores de inflamación/trombosis			
Proteína C reactiva (mg/L) §	0,13 (0,05-0,30)	0,15 (0,07-0,43)	0,217
Interleukina-6 (pg/mL) ¥	1,9 (1,9-2,9)	1,9 (1,9-2,5)	0,876
LpPLA-2 (ng/mL) *	238,3 (80,1)	236,7 (74,4)	0,499
Fibrinógeno (mg/dL) *	316,1 (73,7)	328 (85,4)	0,337
Homocisteína (µmol/L) ¥	10,7 (8,6-13)	10,7 (9,3-12,)	0,513
Dímeros-D (ng/mL) ¥	137 (87-254)	173 (72,5-378)	0,581
CK-MB (ng/mL) ¥	1 (0,4-1,5)	0,9 (0,1-1,8)	0,892
NT-proBNP (pg/mL) ¥	34,5 (19,3-60,5)	39 (22-106,5)	0,155
Framingham riesgo alto (≥10%) ✕	11,5	35,9	0,002
SCORE riesgo alto (≥5%) ✕	1,9	27,2	<0,001
Hepatopatía crónica por VHC ✕	33,3	23,5	0,231
* Expresado como media (DE). Test de la t de Student			
✕ Prueba de Chi cuadrado			
§ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de la mediana			
¥ Expresado como mediana (RIQ). Prueba de Mann-Whitney			

Para el análisis multivariado, se controló el efecto del DRI por aquellas variables que habían demostrado asociarse significativamente con la presencia de ECVs y/o las que presentaron diferencias entre los pacientes con y sin DRI. Las variables candidatas para su introducción en modelo fueron:

- Edad: categorizada por la mediana = 46 años
- Diabetes mellitus
- Hipertensión arterial
- Hipertrigliceridemia
- Antigüedad de la infección por VIH en años: categorizado por la mediana = 10 años
- Tiempos de tratamiento acumulado con ITIAN, ITINAN e IP (categorizados por el percentil 75).
- Niveles de PCR (categorizados por la mediana)
- Recuento de linfocitos CD4: categorizados por el límite prefijado ≥ 250 cél/mL

Previamente al desarrollo del modelo definitivo, se realizó un análisis estratificado evaluando la interacción de del DRI con cada una de las variables a incluir en el modelo. En este análisis bivariado, se observó una modificación del efecto cercano al nivel de significación estadística ($p=0,060$) entre la edad y la presencia de DRI. En el grupo de pacientes más jóvenes (edad ≤ 46 años), el DRI se relacionó de manera significativa con la presencia de ECVs (OR: 7,0; IC95%: 1,7-28,7; $p=0,003$); sin embargo en el grupo con edad mayor a 46 años no se identificó dicha relación (OR: 1,12; IC95%: 0,2-4,3; $p=0,865$).

Para el diseño del modelo explicativo de la relación del DRI con la presencia de ECVs, y debido al número de eventos de la variable dependiente y al elevado número de variables candidatas para este análisis, se decidió optar por ajustar por separado el efecto del DRI con cada una de ellas. Se seleccionaron para el modelo final las que produjeron un cambio en la medida del efecto (OR) del DRI $\geq 10\%$.

Tras censurar la muestra por los valores perdidos, en el modelo de regresión logística final (variable dependiente: presencia de ECVs) se analizaron 138 sujetos y se introdujeron las siguientes variables: presencia de DRI, edad (categorizada por la mediana: 46 años), presencia de diabetes mellitus, recuento de linfocitos CD4 (categorizada por la cifra de 250 cél/mL), tiempo de tratamiento acumulado con ITIAN (categorizado por el p75: 247 meses), con ITINAN (categorizados por el p75: 67 meses) y con IP (categorizado por el p75: 101 meses).

Tras el análisis multivariado, ajustado por edad, diabetes mellitus y el tiempo de exposición a ITINAN e IP la presencia de DRI se asoció de manera independiente a ECVs (OR: 3,8; IC95%:1,3-11; $p=0,012$), por lo que podemos afirmar que en nuestra población de pacientes con VIH, la presencia de deterioro renal incipiente se comportó como un predictor independiente de aterosclerosis carotídea. Dicho de otro modo, los pacientes con DRI tuvieron casi el cuádruple de probabilidad de presentar ECVs en la ecografía carotídea.

VI. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

1. DISCUSIÓN DEL MATERIAL Y MÉTODOS: LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Diseño del estudio:

La limitación más importante proviene del propio diseño del estudio. El estudio es de corte o transversal, uno de los diseños básicos en epidemiología, y es un procedimiento no experimental. La valoración de la exposición (FRCV, VIH, tratamiento antirretroviral) se realiza en el mismo momento que la enfermedad (aumento del GIMc o presencia de placa de ateroma carotídea). La estimación de la frecuencia de enfermedad es el primer eslabón que permite conocer cuántos y quiénes la tienen en un momento dado.

Un estudio transversal no permite distinguir entre factores de riesgo de la enfermedad y factores pronósticos de la misma. No obstante, se pueden utilizar para la generación de hipótesis etiológicas que sean posteriormente comprobadas con otros tipos de diseños.

Representatividad de la muestra:

El aspecto más importante es garantizar que la muestra sea realmente representativa de la población objeto de estudio (población diana). Su representatividad asegurará la validez de las conclusiones obtenidas con los datos de la muestra. Nuestra muestra es representativa de la población con VIH en nuestro país, donde por lo general, se trata de una población joven con mayor representación de algunos FRCV respecto a la población sana. Únicamente hemos excluido a los pacientes con ECV manifiesta ya que

el estudio investiga la ECVs y estos pacientes ya no son subsidiarios de medidas de prevención primaria.

Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados

El conocimiento de la capacidad diagnóstica de las escalas de clasificación del RCV permitirá optimizar la calidad de la estratificación del RCV de pacientes con VIH, así como determinar si existe en algún grupo de pacientes los modelos de Framingham y SCORE es poco fiable, debiendo realizar otras pruebas no invasivas para estratificar su RCV.

Existe un posible sesgo de selección debido a que la población muestreada proviene de consultas hospitalarias con FRCV bien controlados y tratados, por lo que los valores de GIMc podrían estar subestimados respecto a los pacientes con infección por VIH no diagnosticada. Aunque la gran mayoría de los pacientes con infección por VIH conocida en nuestro país se encuentran en seguimiento y tratamiento en consultas similares a la nuestra, existe un gran número de pacientes con infección por VIH por diagnosticar a los que nuestros resultados pudieran no ser extrapolables.

Tipo de Variable resultado principal:

Otra limitación importante del estudio es el uso de un marcador surrogado de RCV (GIMc) como predictor de mortalidad CV en lugar de estudiar la aparición del evento cardiovascular en sí mismo. Esto supondría un estudio difícil de llevar a cabo, de gran coste y de larga duración. Sin embargo, tras revisar la literatura, consideramos que se trata de un buen predictor de mortalidad cardiovascular, recomendado y avalado para

este uso en todas las guías clínicas nacionales e internacionales de las principales sociedades médicas relacionadas con el RCV y representa la técnica preferida para la valoración no invasiva de la aterosclerosis en la mayor parte de los ensayos clínicos.

Técnica de medición del GIMc:

Todas las mediciones se llevaron a cabo sobre soporte digital según la metodología del Consenso de Mannheim previamente reseñada y fueron realizadas por dos técnicos experimentados que desconocían las características clínicas del paciente. Se diseñó un estudio piloto para estudiar la concordancia entre los dos técnicos experimentados en las determinaciones de GIMc. De esta manera se intentó disminuir el sesgo de información.

Variable deterioro renal incipiente

Si bien uno de los objetivos del estudio era analizar la asociación entre el deterioro renal incipiente y la aterosclerosis carotídea, un importante problema fue que, si bien un gran número de trabajos han estudiado la relación entre enfermedad renal crónica y el RCV, no existen criterios establecidos para definir la presencia de deterioro renal incipiente. No obstante, tras una revisión exhaustiva de la literatura, sometimos diferentes definiciones al análisis estadístico, seleccionando la definición que obtuvo los mejores índices de clasificación de los sujetos.

2. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

Hemos descrito la prevalencia de los FRCV clásicos en nuestra población de pacientes infectados por VIH. Hemos encontrado diferencias en la prevalencia de los FRCV respecto a lo descrito en población española (172;388). Hallamos una menor prevalencia de hipertensión arterial en los sujetos con VIH (15,7% vs 34%) y de obesidad (2% vs 20%); sin embargo, la frecuencia de hipercolesterolemia fue mayor (38,8% vs 23%). El porcentaje de fumadores y de diabéticos fue similar a lo encontrado en población española (43,1% vs 41,1% y 9% vs 10%, respectivamente). Según datos del Ministerio de Sanidad y Consumo, la prevalencia de tabaquismo en la población general es del 42,1% en varones y del 27,1% en mujeres (389).

Al igual que en otras series españolas de pacientes con infección por VIH, el tabaquismo fue el FRCV clásico más prevalente en nuestra muestra, siendo los pacientes predominantemente varones (85,6%) jóvenes (edad media: 46 años). La mayor parte de los pacientes de nuestra muestra presentó un IMC dentro de la normalidad.

A la luz de estos resultados, coincidimos con otras series en que el principal FRCV modificable en los sujetos con VIH es el tabaquismo, y los esfuerzos en prevención cardiovascular en VIH deben dirigirse primordialmente a fomentar el abandono del tabaquismo. Un trabajo realizado por nuestro grupo demostró cómo los pacientes con infección por VIH que fueron incluidos en programas de deshabituación tabáquica alcanzaron un 25% de cesación del tabaquismo a los 12 meses, lo que se

vio influido fundamentalmente por el grado de motivación de los pacientes (172;390).

La prevalencia de síndrome metabólico fue también superior a la encontrada en otro estudio previo que comparaba pacientes con infección por VIH con una población de sujetos sanos, emparejados por IMC (12,4% frente a 3,2%), lo que se explica por la mayor frecuencia de dislipemia y resistencia insulínica relacionadas con la lipodistrofia en los pacientes con VIH (128;172). En la infección por VIH se ha observado un aumento en la frecuencia de síndrome metabólico y lipodistrofia, y en su etiología intervienen fundamentalmente el efecto directo del TARGA sobre el metabolismo lipídico (en particular los ITIAN y los IP), la disfunción endotelial y adipocitaria y la activación de citokinas proinflamatorias (127;172) y para su prevención la única posibilidad consiste en utilizar esquemas terapéuticos con fármacos con poca toxicidad sobre el metabolismo lipídico.

3. GROSOR ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEO

Dzau y Braunwald sentaron un paradigma en la fisiopatología de la aterosclerosis al definir la ECV como un *continuum* o concatenación de sucesos durante el tiempo (tabaquismo, dislipemia, hipertensión arterial,...) que condiciona la aterosclerosis progresiva y, finalmente, el evento cardiovascular fatal (391). De esta forma, durante el proceso aterosclerótico el GIMc sufre un aumento progresivo que se relaciona de manera lineal con la incidencia de eventos cardiovasculares, sin que exista un claro valor de GIMc que determine ausencia o presencia de RCV. De hecho, se ha demostrado que por cada incremento de 0,1 mm en el GIMc existe un aumento del riesgo de infarto de miocardio del 10-15% y del riesgo de ictus del 13-15% (213). Por ello, al igual que en otros trabajos, clasificamos a los sujetos de acuerdo a su RCV en función del grado de aterosclerosis carotídea determinada por los percentiles del GIMc en la muestra, comparando a los sujetos con mayor grado de aterosclerosis carotídea (que denominamos “sujetos con ECVs”) con los pacientes con menor grado de aterosclerosis carotídea (“sujetos sin ECVs”).

El GIMc se relacionó de manera lineal con la edad, con un incremento anual mayor en varones (0,0133 mm) que en mujeres (0,0071 mm), lo que desde un punto de vista fisiopatológico es consistente con el conocido efecto protector estrogénico frente a la aterosclerosis (172;392). En varones, la frecuencia de ECVs fue casi el doble de la encontrada en mujeres (29,9% vs 15,2%; $p=0,057$), rozando la significación estadística pero sin alcanzarla, probablemente debido al limitado número de mujeres incluidas en el análisis ($N=33$).

Como era de esperar, la presencia de ECVs se asoció significativamente con la existencia de FRCV modificables: edad, perímetro de cintura, hipertensión arterial, diabetes mellitus (con sus parámetros analíticos relacionados: glucosa, hemoglobina glicosilada, insulina y HOMA) y síndrome metabólico.

Cabe resaltar que no encontramos diferencias significativas en el perfil lipídico de los sujetos con y sin ECVs. Es probable que el efecto de la dislipemia sobre el GIMc se haya visto atenuado en el análisis, debido al diseño transversal del estudio. La dislipemia ocasionada por los fármacos antirretrovirales de primera generación al inicio de la epidemia por VIH, con mayor toxicidad sobre el metabolismo lipídico que los fármacos empleados en la actualidad, pudo favorecer durante años la progresión de la aterosclerosis carotídea, no pudiendo en la actualidad detectar dicho efecto en un diseño transversal por la menor toxicidad lipídica de los esquemas de TARGA actuales.

Respecto al VHC, su relación con el desarrollo de arteriosclerosis es controvertida. La presencia de infección por VHC evaluada mediante una serología positiva se ha asociado con enfermedad aterosclerótica coronaria y carotídea en algunos estudios (133;135), pero no en otros (140). Parece ser que podría aumentar el RCV al favorecer la resistencia insulínica, y, a la larga, la aparición de diabetes mellitus. Sin embargo, en nuestro trabajo no hemos hallado diferencias significativas en la frecuencia de aterosclerosis carotídea en los sujetos coinfectados respecto a los mono infectados.

Aterosclerosis carotídea y biomarcadores séricos

Dado que los FRCV tradicionales solo explican el 50% del total de episodios coronarios (324), en nuestro estudio analizamos un extenso panel de biomarcadores relacionados con la inflamación y la trombosis crónicas, que en diferentes estudios se habían asociado a ECV, algunos de ellos poco estudiados en el contexto de la infección por VIH.

La PCR es el marcador de RCV con un mayor cuerpo de evidencia para su uso como predictor de ECV. Se trata de un marcador independiente de RCV, que puede reflejar la contribución al aumento en el RCV del estado proinflamatorio que acontece en la infección por VIH. En nuestro estudio hallamos relación entre los niveles de PCR y la presencia de ECVs: los pacientes con niveles de PCR por encima de la mediana (1,6 mg/L), presentaron mayor frecuencia de ECVs (OR: 1,7; IC95% 1,0-3,0; $p=0,04$). Sin embargo, estas diferencias desaparecieron tras el análisis multivariado, por lo que no podemos afirmar que la PCR se asocie de manera independiente al GIMc en sujetos con infección por VIH. Estas cifras de PCR sí se han asociado en la población general a un incremento moderado del RCV (277) y recientemente, las guías de *la American Heart Association* de 2010 han recomendado el uso de la PCR para la decisión del uso de estatinas en sujetos con cLDL <130 mg/dL (393). Sin embargo, como ya desarrollamos en la introducción, existe gran heterogeneidad de resultados en la literatura respecto a la asociación de la PCR con el GIMc.

Respecto a la Lp-PLA2, una enzima específica de inflamación vascular implicada en la formación de placas de ateroma inestables y que es objeto de intensa investigación en la actualidad, cabe destacar que no hemos encontrado asociación con la presencia de ECVs. Pocos trabajos han buscado asociación entre los niveles de LpPLA2 y la presencia de ECVs determinada por ecografía carotídea, y hasta donde conocemos ninguno en sujetos infectados por el VIH. En una tesis doctoral publicada recientemente (394), los niveles de LpPLA2 identificaron correctamente mujeres con GIMc aumentado. Sin embargo, en nuestro estudio, aunque encontramos una frecuencia importante de LpPLA2 aumentada (39,3%), no hallamos diferencias entre el grupo de pacientes con y sin ECVs. Creemos que esta ausencia de relación pueda deberse a que la LpPLA2 se asocia a un aumento de la inestabilidad de la placa de ateroma, mientras que posiblemente la mayoría de nuestros pacientes, probablemente se hallen en una fase precoz del proceso aterosclerótico, en la que las placas de ateroma son todavía en su mayor proporción estables. Cabe mencionar también que al estudiar la combinación de PCR y LpPLA2 como marcadores de RCV aumentado, no hemos hallado relación en nuestro trabajo, a diferencia de lo encontrado en el estudio ARIC (347).

Otros marcadores que se han relacionado en nuestro estudio con el GIMc han sido los dímeros-D (marcador de trombosis), la CK-MB (marcador de necrosis miocárdica), el cociente albúmina/creatinina en orina (marcador de alteración en la microvasculatura glomerular renal) y el NT-proBNP (marcador de sobrecarga ventricular izquierda); todos ellos con niveles dentro del rango de la

normalidad, pero con significación estadística al categorizar por la mediana. Estos biomarcadores, o bien reflejan diferentes consecuencias del proceso aterosclerótico, o pueden estar relacionados con factores predisponentes de base (por ejemplo, los dímeros-D con la trombosis, o el NT-proBNP con la hipertensión arterial). Sin embargo, no pudimos incluirlos en el análisis multivariado debido al limitado tamaño muestral, por lo que no podemos afirmar que estos biomarcadores sean predictores independientes de ECVs en pacientes con infección por VIH.

Aterosclerosis carotídea e infección por VIH

Por último, hemos hallado asociación entre diferentes parámetros relacionados con la infección por VIH y la presencia de aterosclerosis carotídea: la duración de la infección por VIH, el tiempo de exposición al TARGA, y en concreto con ITIAN, análogos de nucleótidos e IP; la presencia de lipodistrofia y la inmunodepresión. Sin embargo, ya hemos descrito cómo tras el análisis multivariado solo la edad, la presencia de inmunodepresión y la antigüedad de la infección por VIH mantuvo su efecto sobre el GIMc, con un OR: 3,4 (IC95%: 1,0-11) para los pacientes con más de 10 años de antigüedad de la infección por VIH.

El análisis del efecto del TARGA sobre el RCV es complejo debido al solapamiento de los diferentes grupos de antirretrovirales y los cambios de esquemas terapéuticos durante el tiempo. Para obtener la potencia estadística necesaria para detectar diferencias son necesarios estudios con mayor número

de pacientes. Como ya hemos comentado, la evidencia actual sugiere que existe un ligero incremento de la aterosclerosis subclínica medida en la infección por VIH, con una tendencia no significativa hacia mayor GIMc y presencia de placa debida a los IPs (225).

Por otra parte, el hecho de que en los pacientes con mayor inmunodepresión la prevalencia de ECVs sea mayor, encaja los datos conocidos sobre inmunodepresión y ECV en la infección por VIH. Aunque las causas no son del todo conocidas, se ha observado que en la infección por VIH, los sujetos más inmunodeprimidos presentan con mayor frecuencia ECVs (90;395).

Es notable la interacción observada entre la edad y la antigüedad de la infección por VIH, que permaneció significativa tras el análisis multivariado. Según nuestros datos, el efecto del VIH sobre la presencia de ECVs es importante en los sujetos más jóvenes (OR: 3,4; IC95%: 1,1-11,5) y, sin embargo, este efecto desaparece en los sujetos de mayor edad (≥ 46 años). La explicación a este hecho puede ser la siguiente: en todos los análisis efectuados en nuestro estudio, el mayor efecto sobre el incremento del RCV es atribuible a la edad. Podemos afirmar que el efecto aterogénico de la infección por VIH se tradujo en una mayor frecuencia de ECVs en los pacientes más jóvenes; sin embargo, dicho efecto no fue significativo en el grupo de mayor edad. Es probable que el efecto proaterogénico de la inflamación crónica ocasionada por el VIH y el TARGA tenga mayor traducción clínica en los sujetos jóvenes, mientras que en los individuos de mayor edad, el envejecimiento arterial

ocasionado por la edad eclipsa el efecto de los factores asociados a la infección por VIH.

4. DISCORDANCIA ENTRE LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA DETERMINADA POR ECOGRAFÍA CAROTIDEA Y LA PREDICCIÓN BASADA EN LOS MODELOS SCORE Y FRAMINGHAM

Aunque en la población española se recomienda emplear el modelo SCORE para la estratificación del RCV (187;196), en los pacientes con VIH la mayor parte de los estudios se han realizado con las tablas de Framingham, y hasta donde conocemos no se había comparado hasta el momento la capacidad de predicción de ECVs de ambos modelos en pacientes infectados por el VIH.

Para la estratificación del RCV, ambos modelos conceden a los FRCV clásicos diferente peso, que se traduce en el resultado final. Partíamos de la hipótesis de que estas fórmulas, al no considerar variables relacionadas con la inflamación crónica y las alteraciones metabólicas que acontecen en el contexto de la infección por VIH, subestimarían la presencia de ECVs en estos pacientes. La capacidad predictiva fue superior para el modelo SCORE, aunque las diferencias entre ambos modelos no fueron significativas (AUC 0,652 vs 0,637). Por otro lado, tanto el SCORE como el Framingham subestimaron la presencia de aterosclerosis subclínica, estratificando como de bajo riesgo al 20,2% y 20,3% de los pacientes con presencia de ECVs, respectivamente. Basándonos en nuestros datos, podemos afirmar entonces que la capacidad predictiva de los modelos SCORE y Framingham para la presencia de ECVs en pacientes con VIH es moderada y que ambos modelos subestiman la presencia de ECVs en un importante número de pacientes.

Estos pacientes en que los modelos SCORE y Framingham predijeron bajo RCV pero que presentaron aterosclerosis carotídea los definimos como pacientes con discordancia, pacientes que presentaron unas características determinadas. Tanto para el SCORE como para el Framingham, los pacientes con discordancia presentaron mayor frecuencia de algunos FRCV (mayor edad, mayor frecuencia de hipertensión arterial), diferencias en los parámetros de función renal (mayores niveles del cociente albúmina/creatinina en orina y menor FG estimado por la fórmula EPI) y diferencias en las variables relacionadas con la infección por VIH (mayor frecuencia de inmunodepresión, mayor tiempo de exposición a ITIAN e IP).

Los pacientes con discordancia para el modelo SCORE presentaron además con mayor frecuencia lipodistrofia, síndrome metabólico y mayor perímetro de cintura, mientras que los pacientes con discordancia para el modelo de Framingham presentaron mayor índice de masa corporal.

Tras el análisis multivariado para el modelo SCORE, los pacientes con discordancia presentaron mayor frecuencia de algunas variables relacionadas con el VIH que rozaron el límite de la significación estadística: presencia de inmunodepresión (CD4 <250 células/mL) (OR: 2,7; IC95%: 0,9-8,1; p= 0,069), el tiempo de exposición a ITIAN (>p75: 247 meses) (OR: 2,6; IC95%: 0,9-7,4; p= 0,080) y el tiempo de exposición a IP (>p50: 24 meses) (OR: 2,1; IC95%: 0,9-4,8; p= 0,074). Para el modelo de Framingham, sí se asociaron de manera independiente a la presencia de discordancia la hipertensión arterial (OR: 4,0; IC95%: 1,2-13) y el tiempo de

exposición a IP (OR: 1,4-9,0). No hemos encontrado una explicación clara al porqué la hipertensión arterial ocasiona mayor frecuencia de discordancia cuando se emplea el modelo de Framingham, ya que se trata de un FRCV que contempla el modelo de Framingham para la clasificación del RCV. Pensamos que la hipertensión arterial podría tener mayor efecto en los sujetos infectados por el VIH al interaccionar con el propio VIH y los fármacos antirretrovirales, aunque esta afirmación no deja de ser una hipótesis ya que en nuestro trabajo no hemos estudiado población no infectada por el VIH. El concepto a destacar es que la exposición a las variables relacionadas con el VIH (inmunodepresión, exposición a fármacos, y en particular, el tiempo de exposición a IP) se asocia a daño vascular subclínico y supone un aumento de RCV que no tienen en cuenta las tablas utilizadas en la actualidad para la estratificación del RCV en los sujetos infectados por el VIH. Por tanto, es necesario que se desarrollen modelos de clasificación del RCV específicos para esta población de pacientes.

Por otra parte, en ambos modelos, el AUC mejoró significativamente en el análisis por regresión logística al incorporar variables relacionadas con el VIH. La mejor estrategia, tanto para el SCORE como para el Framingham, fue la inclusión del recuento de linfocitos CD4 y el tiempo exposición a ITIAN, alcanzando un AUC= 0,757 para el SCORE y 0,730 para el Framingham. Este aumento del AUC fue estadísticamente significativo respecto al AUC de partida. Sin embargo las diferencias en las AUC alcanzadas al entre ambos modelos corregidos no lo fueron.

Tras comparar ambos modelos, podemos afirmar que si bien el modelo SCORE tiende a clasificar mejor a los pacientes para la presencia de ECVs, no existen diferencias significativas entre ambos modelos. Además, al ajustar ambos modelos por el recuento de linfocitos CD4 y por el tiempo de exposición a ITIAN, existe una mejoría estadísticamente significativa del AUC (SCORE: 0,757; Framingham: 0,730).

Nuestros resultados concuerdan con lo observado en un subanálisis reciente del estudio D:A:D, los investigadores han pretendido diseñar un modelo de predicción de eventos cardiovasculares en pacientes con infección por VIH. El modelo incluyó las siguientes variables: edad, sexo, presión arterial sistólica, tabaquismo, historia familiar de ECV, colesterol total, cHDL, y tiempo de exposición a indinavir, lopinavir/ritonavir y abacavir. El modelo presentó buena capacidad predictiva (AUC: 0,783; IC95%: 0,670-0,818), prediciendo el desarrollo de eventos cardiovasculares de manera más precisa que el modelo Framingham (98). Por otra parte, también se ha demostrado que el modelo de Framingham subestima el riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes infectados por el VIH (397). Por todo ello, creemos necesario el desarrollo y la utilización en la práctica clínica habitual de modelos de categorización del RCV desarrollados en sujetos con infección por VIH, que además de la presencia de FRCV consideren la exposición a los fármacos antirretrovirales, y probablemente que incorporen también variables relacionadas con la inflamación crónica, como la PCR. Mientras no existan modelos específicos para los sujetos con infección por VIH, podemos afirmar los modelos SCORE y Framingham son igualmente válidos para la predicción de la ECVs. Sin embargo, hemos de tener en mente que ambos modelos pueden subestimar el

RCV. Las características del VIH que mejor ayudan a clasificar a los sujetos con RCV alto son el recuento de linfocitos CD4 y el tiempo de exposición a ITIAN.

5. DETERIORO RENAL INCIPIENTE COMO MARCADOR DE DAÑO VASCULAR SUBCLÍNICO

El desarrollo de enfermedad renal crónica en los sujetos infectados por el VIH ha sido objeto de creciente preocupación en los últimos años. Si bien sus causas son múltiples, las consecuencias a largo plazo no han sido bien establecidas. En pacientes con VIH, el menor filtrado glomerular o la presencia de proteinuria se han asociado con un aumento de la mortalidad por todas las causas (368), así como la presencia de microalbuminuria aislada se ha asociado a una mayor mortalidad (29).

Si bien las fórmulas recomendadas hasta la actualidad para la estimación del FG han sido la de Cockcroft-Gault y la MRDR, estas fórmulas adolecen de falta de precisión cuando el FG es superior a 60 mL/min, situación en la que se encontraban la gran mayoría de nuestros pacientes. Por tanto, decidimos emplear la fórmula EPI, que ha demostrado mayor precisión para la estimación del FG cuando éste es superior a 60 mL/min/m² (375;376).

De hecho, en una fase previa al análisis estadístico definitivo estudiamos las diferencias entre las ecuaciones MDRD y EPI, y su asociación con la presencia de ECVs. Con la ecuación MDRD no hallamos diferencias significativas en el FG estimado entre los pacientes con y sin ECVs; sin embargo, sí existieron diferencias estadísticamente significativas al emplear la fórmula EPI. Como esperábamos, los sujetos con ECVs presentaron menor FG estimado (mL/min/1,73m²) (89,2[10,7] vs 96,8[10,1]; $p < 0,001$), por lo que descensos leves del FG, equivalentes a un fase II de la clasificación de la insuficiencia renal crónica de las guías NICE (396).

Podemos concluir, entonces, que la fórmula EPI, a diferencia de la fórmula MDRD, detectó alteraciones en la función renal asociadas a aterosclerosis carotídea. Por tanto, consideramos apropiado el uso de esta fórmula frente a sus predecesoras (Cockcroft-Gault y MDRD) para la estimación de la influencia del deterioro de la función renal sobre la aterosclerosis carotídea en pacientes con infección por VIH.

En nuestro estudio, hemos tratado de identificar marcadores sencillos y accesibles de ECVs, que ayuden en la práctica clínica a identificar a los pacientes con mayor riesgo de presentar aterosclerosis carotídea. Para ello, especulamos con que la detección de alteraciones leves en la función renal podría ser un marcador de aterosclerosis carotídea a otros niveles. Hasta donde conocemos, no se ha estudiado la asociación entre alteraciones leves de la función renal y la presencia de aterosclerosis carotídea. De hecho, encontramos dificultades en la definición de la variable “deterioro renal incipiente”, ya que no existe una definición clara en la literatura, y la mayor parte de los estudios hasta el momento han analizado la asociación entre enfermedad renal establecida y riesgo cardiovascular.

La ausencia de deterioro del FG no descarta enfermedad renal, debido a que diversas enfermedades renales, principalmente en sus etapas iniciales, pueden cursar con tasas de FG normales o incluso elevadas. Por esto, junto con el FG es necesaria la determinación de otros marcadores urinarios de daño renal, como la albuminuria (367). La mediana del cociente albúmina/creatinina en nuestra muestra fue de 5 mg/g. Habitualmente estas cifras no se consideran patológicas, considerándose microalbuminuria a partir de 30 mg/g.

Otro indicador de la función renal empleado fundamentalmente en estudios de investigación es la Cistatina C. Como ya hemos comentado, en el estudio SMART (385), la interrupción del TARGA se asoció a un empeoramiento de los niveles de Cistatina C. Sin embargo, no hemos hallado en nuestro estudio asociación entre los niveles de Cistatina C y la presencia de ECVs, por lo que este marcador no ha ayudado en nuestro estudio a identificar a los pacientes con aterosclerosis carotídea.

Por todo ello, en un análisis preliminar estudiamos los índices de clasificación de los sujetos para la presencia de ECVs con distintas definiciones de “deterioro renal incipiente”, en la que incluimos los indicadores de función renal que en el análisis univariado se asociaron a ECVs: filtrado glomerular estimado por la fórmula EPI y albuminuria, evaluando distintos grados de la misma.

Por todo ello, creamos la variable “Deterioro Renal Incipiente” o DRI, definida por la presencia de al menos uno de las tres situaciones siguientes: descenso leve del FG estimado por la fórmula EPI (<90 mL/min/1,73 m²) (396), tasa de descenso del FG estimado del 3,33% anual y/o presencia de cociente albúmina/creatinina aumentado (mayor o igual a la mediana de la muestra: 5 mg/g, a 10 mg/g y a 30 mg/g). La definición que mejor clasificó a los sujetos fue la que incluía los niveles de albuminuria categorizados por la mediana (5 mg/g). Pese a que estos niveles de albuminuria no se consideran patológicos, un estudio de la cohorte de Framingham ha encontrado asociación entre niveles bajos de albuminuria (3,9 mg/g en varones y 7,5 mg/g en mujeres) e incidencia de eventos cardiovasculares (379). De hecho, en nuestro estudio los pacientes con ECVs presentaron mayor cociente

albúmina/creatinina y un cociente albúmina/creatinina ≥ 5 mg/g predijo de manera bastante precisa la presencia de ECVs (AUC: 0,713).

El 64,1% de los sujetos estudiados presentaron DRI según nuestra definición. Los pacientes con DRI presentaron peor perfil cardiovascular: mayor edad, mayor porcentaje de diabetes mellitus, y síndrome metabólico. Presentaron, además, mayor exposición a variables relacionadas con el VIH: mayor frecuencia de lipodistrofia, mayor porcentaje de pacientes en TARGA, mayor duración de la infección por VIH y mayor tiempo de tratamiento antirretroviral acumulado con ITIAN, ITINAN e IP.

Tras ajustar el modelo multivariado, la presencia de DRI se asoció de manera independiente a ECVs (OR: 3,8; IC95%:1,3-11). Ningún estudio hasta el momento ha demostrado asociación entre la presencia de alteraciones leves en la función renal y la aterosclerosis carotídea en sujetos con VIH. En nuestro estudio, la presencia de DRI se comportó como un predictor independiente de ECVs, por lo que creemos que éste puede ser un abordaje sencillo y accesible, que puede ayudar a identificar de manera precoz a los sujetos con infección por VIH y RCV aumentado y ayudar en el planteamiento diagnóstico-terapéutico del control del RCV en la infección por VIH.

Como conclusión, el aumento de RCV en la infección por VIH ha dejado de ser una especulación para convertirse en un hecho demostrado en diferentes estudios observacionales. Su fisiopatología, así como el abordaje diagnóstico-terapéutico idóneo, son temas altamente complejos en los que queda mucho por aclarar. Si

bien la epidemiología y la patogenia de la aterosclerosis difieren en estos pacientes respecto a la población sana, no existen recomendaciones específicas para el manejo de este problema, de creciente importancia, en los sujetos infectados por el VIH. Las medidas terapéuticas, además, deben ser específicas en esta población debido a las numerosas interacciones de las estatinas con el TARGA. Por tanto, son necesarios más estudios para responder a las numerosas preguntas que surgen entorno a la patogenia, el diagnóstico y el tratamiento de la ECV en la infección por VIH. Con nuestro trabajo, hemos pretendido arrojar algo de luz al problema de la detección mediante pruebas no invasivas del aumento de riesgo cardiovascular en la infección por VIH.

VII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. En los pacientes con infección por VIH, la presencia de aterosclerosis subclínica se relaciona de manera independiente con la edad (OR: 7; IC95%: 2,2-19,5) y con un mayor grado inmunodepresión (OR: 2,8; IC95%: 1,0-8,3). En el subgrupo de pacientes jóvenes (<46 años), se relaciona además con una mayor antigüedad de la infección por VIH (OR: 3,4; IC95%: 1,1-11), efecto que desaparece en el subgrupo de pacientes de mayor edad (≥46 años).
2. Los pacientes con aterosclerosis subclínica presentaron niveles significativamente mayores de diferentes marcadores de inflamación y trombosis: PCR, dímeros-D, creatín kinasa-MB, cociente albúmina/creatinina en orina y NT-proBNP. Sin embargo, no se encontró asociación con los niveles de LP-PLA2.
3. La capacidad predictiva de los modelos SCORE y Framingham para la presencia de aterosclerosis subclínica es moderada (AUC: 0,652 y 0,637, respectivamente), y si bien el SCORE tiende a clasificar mejor a los sujetos, no se han hallado diferencias significativas entre ambos modelos. Por tanto, ambos modelos predicen de manera similar la presencia de aterosclerosis subclínica en sujetos con infección por VIH.
4. Existe discordancia entre la presencia de aterosclerosis subclínica determinada por ecografía carotídea y la predicción de ECVs mediante los modelos SCORE y

Framingham. La frecuencia de pacientes con RCV calculado bajo pero aterosclerosis subclínica demostrada fue del 20,2% para el SCORE y 20,3% para el Framingham, por lo que ambos modelos, cuando se aplican en sujetos con VIH, subestiman el RCV en un importante número de pacientes.

5. Los factores relacionados de manera independiente con la presencia de discordancia fueron un mayor grado de inmunodepresión y un mayor tiempo de exposición a ITIAN e IP. En estos sujetos, deberíamos considerar el uso de otras pruebas no invasivas para la estratificación del RCV.
6. Al ajustar la capacidad predictiva de los modelos SCORE y Framingham por los factores relacionados con el VIH, las variables que mejor ayudan a clasificar a los sujetos con RCV alto son el recuento de linfocitos CD4 y el tiempo de exposición a ITIAN. Con estas dos variables, la capacidad predictiva de ambos modelos mejora de moderada a buena con significación estadística y se consigue el máximo incremento en el AUC (AUC: 0,757 y 0,730, respectivamente). El modelo SCORE, ajustado por estas dos variables, tiende a predecir mejor la presencia de aterosclerosis subclínica que el modelo de Framingham, aunque las diferencias encontradas entre ambos modelos no son estadísticamente significativas.
7. Los pacientes con menor FG estimado por la fórmula EPI presentan mayor frecuencia de aterosclerosis subclínica. Sin embargo, no se han detectado

diferencias al estimar el FG por la fórmula MDRD. Consideramos, por tanto, que la fórmula EPI debe ser la empleada en la estimación del FG en pacientes con VIH cuando se use la función renal como marcador de daño vascular subclínico, en detrimento de su predecesora (MDRD).

8. La presencia de deterioro renal incipiente (definida como: FG estimado <90 mL/min y/o tasa de descenso del FG estimado $>3,33\%$ anual y/o albuminuria ≥ 5 mg/g) se asocia de manera independiente a la aterosclerosis subclínica (OR: 3,8; IC95%:1,3-11). Por tanto, nos encontramos ante un marcador de daño vascular subclínico sencillo y accesible, que puede ayudar a identificar de manera precoz a los sujetos con infección por VIH y riesgo cardiovascular aumentado.

CONCLUSIONS

1. In our study in HIV-infected patients, the presence of subclinical atherosclerosis was independently associated with age (OR: 7; CI95%: 2,2-19,5) and with the presence of immune suppression (OR: 2,8; CI95%: 1,0-8,3). In the subgroup of younger patients, it was also associated with longer time to diagnosis of HIV infection (OR: 3,4; CI95%: 1,1-11), however this effect disappeared in the subgroup of older patients.
2. Patients with subclinical atherosclerosis had higher concentrations of different biomarkers of inflammation and vascular damage: CRP, D-dimers, MB-creatine kinase, albumin/creatinine urine ratio and NT-proBNP. However, we found no association with Lp-PLA2 levels.
3. Regarding the diagnostic performance of Framingham risk score (FRS) and SCORE model for the presence of subclinical atherosclerosis, both equations showed a moderate predictive value for the diagnosis of subclinical atherosclerosis (AUC: 0,652 and 0,637, respectively). Even though SCORE model shows a better global risk classification, these differences did not reach statistical significance. Thus, both models predict similarly the presence of subclinical atherosclerosis in HIV-infected patients.
4. There is non-concordance between the prediction of subclinical atherosclerosis and its presence when measured by carotid ultrasonography. The frequency of

patients with predicted low cardiovascular risk in whom subclinical atherosclerosis was demonstrated was 20,3% for FRS and 20,2% for SCORE model, respectively. Therefore, the FRS and SCORE models, when used in HIV patients, underestimate the cardiovascular risk in an important proportion of patients.

5. Factors independently associated with the presence of non-concordance were a higher degree of immune suppression and a longer exposure to nucleoside reverse transcriptase inhibitors as well as protease inhibitors. In these subjects, FRS and SCORE models are more likely to underestimate cardiovascular risk and they may benefit from other non-invasive cardiovascular risk approaches, such as cIMT measurement.
6. The best FRS and SCORE diagnostic performance was obtained when NRTI exposure and CD4 lymphocyte count were added to both models. FRS' AUC significantly increased to 0,730 (0,660-0,800). Similarly, SCORE's AUC significantly increased to 0,757 (0,688-0,827). Thus, HIV patients may benefit from cardiovascular risk classification models that include HIV-related factors.
7. Patients with subclinical atherosclerosis had a lower glomerular filtration rate (GFR) estimated by the EPI equation. However, this difference was not detected when GFR was estimated with the MDRD equation. Thus, the EPI

equation performs better than the MDRD equation when we use the estimated GFR as a marker of subclinical atherosclerosis.

8. Patients with incipient renal impairment, as determined by slight decreases in estimated GFR or low grade albuminuria, more frequently had subclinical atherosclerosis. It can be concluded that the presence of incipient renal impairment was an independent predictor factor for subclinical atherosclerosis (OR: 3,8; CI95%:1,3-11) and this might be an easy and accessible way to identify patients with higher subclinical atherosclerosis and therefore, at increased CVD risk.

VIII. ANEXOS

**ESTUDIO “VALORACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICO EN
PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH MEDIANTE PRUEBAS NO INVASIVAS:
GROSOR ÍNTIMA-MEDIA CAROTÍDEO, MODELO SCORE Y USO DE
BIOMARCADORES SÉRICOS”.**

**DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO
INFORMADO.**

Se le ofrece participar en un estudio para analizar con detalle el riesgo que sufre de padecer enfermedad cardiovascular, como infarto de miocardio o accidente cerebrovascular.

Algunos datos sobre su enfermedad

Desde 1996, la utilización de introducción de tratamientos de alta eficacia para el virus VIH (TAR) ha supuesto un cambio fundamental en la evolución de su enfermedad. En los pacientes que siguen el tratamiento correctamente, actualmente se puede considerar una enfermedad crónica. Esto supone que la mortalidad relacionada con la enfermedad ha disminuido mucho. Pero a la vez, están apareciendo algunos efectos adversos debido a estas medicinas y la duración prolongada de la enfermedad y de la infección crónica. Entre los efectos adversos más importantes destaca el incremento de sufrir enfermedad cardiovascular. Identificar a los pacientes que sufren mayor riesgo de presentar infartos de miocardio o enfermedad cerebrovascular es importante para poder prevenir su aparición con el paso del tiempo.

¿Cómo conocer quién presenta riesgo de padecer enfermedad cardiovascular?

La manera más fiable de averiguar quién tiene más posibilidades de desarrollar una enfermedad cardiovascular es mediante técnicas invasivas y costosas, a menudo no exentas de riesgos para el paciente que se somete a ellas. Por ello se han desarrollado diferentes métodos no-invasivos, como el estudio del grosor de la arteria carótida del cuello mediante ecografía, así como el uso de ecuaciones matemáticas y la determinación de biomarcadores en sangre. Sin embargo, todavía no se conoce bien si estos métodos, que han demostrado ser útiles en la población general, son también aplicables a los pacientes con infección por el virus VIH.

¿Qué son los biomarcadores?

Son moléculas sintetizadas por nuestro organismo cuyos niveles aumentan en las personas con más riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.

¿Cuál es el propósito del estudio?

Pretendemos averiguar si el uso de una ecuación matemática (modelo SCORE), que tiene en cuenta diferentes datos (edad, sexo, consumo de tabaco, presión arterial y niveles de colesterol), así como la determinación de biomarcadores en sangre puede ayudarnos a conocer su riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular en el futuro.

¿En qué consiste el estudio?

Si decide participar, el médico le realizará una historia clínica y una exploración física. Se hará un análisis de sangre y orina coincidiendo con la próxima analítica para determinar distintos biomarcadores. Además, se medirá mediante ecografía del cuello el grosor de la arteria carótida.

¿Tengo necesariamente que participar?

Usted es libre. Puede decidir participar o no. Si decide participar y en cualquier momento cambia de opinión por cualquier motivo, podrá decírselo al personal investigador. Tiene derecho a retirarse del estudio. Su decisión de participar o no, o su decisión de interrumpir su participación no influirá en la relación con su médico ni en la calidad de la atención sanitaria que recibe ahora y en el futuro.

¿Cuáles son los posibles beneficios de mi participación?

La información que se obtenga del estudio y las conclusiones pueden aumentar el conocimiento que tenemos sobre las complicaciones de su enfermedad y tratamiento. En un futuro tanto usted como otras personas con su misma enfermedad, podrían beneficiarse de ello. Los resultados del estudio no necesariamente pueden ofrecerle un beneficio práctico.

¿Existe alguna contraindicación para la participación en el estudio?

No pueden participar los pacientes que tengan enfermedad cardiovascular conocida: antecedentes de ictus, infarto de miocardio, enfermedad renovascular de origen aterosclerótico, claudicación intermitente

¿Se respetará la confidencialidad de mi participación en el estudio?

Durante este estudio, se recogerán datos de usted. Estos datos se manejarán de acuerdo con la Ley Orgánica de protección de datos de carácter personal 15/1999. Toda la información sobre usted, relacionada con este estudio, se tratará con la más estricta confidencialidad. Solo la conocerán su médico y los responsables del estudio. Solo se utilizarán para la evaluación científica del estudio.

Contactos para obtener más información:

En caso de que tenga alguna duda relativa al estudio, consulte a su médico.

Nombre del médico:.....

Teléfono de contacto:.....

Formulario de consentimiento informado

Yo, (nombre y apellidos).....

He leído la hoja de información sobre el estudio “Valoración del riesgo cardiovascular subclínico en pacientes con infección por VIH mediante pruebas no invasivas: grosor íntima-media carotídeo, modelo SCORE y uso de biomarcadores séricos”

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con el doctor: y he recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

También he sido informado de forma clara, precisa y suficiente de que los datos serán tratados con respeto a mi intimidad y a la normativa vigente de protección de datos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio. Recibiré una copia firmada de esta hoja de información al paciente y consentimiento informado.

Firma del paciente:		Fecha:	
Firma del investigador:		Fecha:	

EVALUACIÓN DE LA REDISTRIBUCIÓN GRASA SEGÚN LA
LIPODYSTROPHY SEVERITY GRADING SCALE (LSGS) (398)

Tipo	Localización	Grado	Paciente	Observador
Lipoatrofia	Cara	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
	Brazos	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
	Nalgas	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
	Piernas	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
	Abdomen	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
Lipoacúmulo	Cuello	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3
	Mamas	Ausente	0	0
		Leve	1	1
		Moderado	2	2
		Grave	3	3

ausente = 0 = sin cambios apreciables

leve = 1 = apreciable solo tras inspección detallada

moderado = 2 = fácilmente apreciable por el paciente y/o el médico

grave = 3 = fácilmente apreciable por un observador no entrenado.

La puntuación global es el valor medio de la suma de las puntuaciones dadas por el paciente y por el observador (mínimo: 0, máximo: 21).

ABSTRACT: MISMATCH BETWEEN SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS AND THE CALCULATED FRAMINGHAM AND SCORE RISK PREDICTION IN HIV-INFECTED PATIENTS

BACKGROUND: HIV-infected patients show an increase in atherosclerosis at relatively young age and an accelerated atherosclerosis, probably due to the infection itself and undesirable effects of antiretroviral therapy. Diagnosis of subclinical atherosclerosis offers the benefit of an intensive management of the risk factors before the onset of clinical disease. Framingham risk score (FRS) and SCORE model has been proposed to identify patients at increased risk in the general population, but this equations could underestimate CVD risk in HIV-infected patients as they only contemplate classical CVD risk factors. Measurement of the carotid intima-media thickness (cIMT) linearly correlates with the incidence of coronary events and can identify patients at increased CVD risk.

OBJECTIVES AND METHODS: In order to identify HIV-infected patients at increased CVD risk, we measured the cIMT in 234 HIV-infected patients. Individuals who presented a cIMT \geq 75th percentile (0,64 mm) or in whom a plaque was demonstrated were at increased CVD risk and were classified as subjects with subclinical atherosclerosis. The remaining patients were included in the comparison group. We compared diagnostic performance of FRS and SCORE predictive models for the detection of subclinical atherosclerosis by analyzing the area under curve (AUC) of the Receiver Operating Characteristic (ROC). We determined the characteristics of patients with predicted low risk but with presence of subclinical atherosclerosis (named "mismatched patients"). We adjusted the FRS and SCORE risk estimation with HIV-related factors by multivariate logistic model.

RESULTS: 65 (27,8%) of 234 patients were diagnosed with subclinical atherosclerosis. Concordance of FRS and SCORE for the presence of subclinical atherosclerosis was low (kappa: 0,280 and 0,339, respectively). Global predictive performance was moderate (AUC: 0,637 and 0,652, respectively). Differences in respective AUC did not reach statistical significance ($p=0,287$). FRS and SCORE predicted low risk in 172 and 188 patients, of whom 20,3% and 20,2% were mismatched patients, respectively. For FRS, after multivariate analysis, mismatched patients present higher frequency of hypertension (OR:4,0; CI95%:1,2-13), longer exposure to protease inhibitors (PI) (OR: 1,4-9,0). For SCORE, mismatched patients had higher frequency of immune suppression (CD4<250 cell/mL) (OR:2,7; CI95%: 0,9-8,1; $p=0,069$), exposure to non-nucleoside retrotranscriptase inhibitors (NRTI) ($>75^{\text{th}}$ percentile: 247 months) (OR: 2,6; CI95%: 0,9-7,4; $p=0,080$) and PI exposure ($>$ median: 24 months) (OR:2,1; CI95%:0,9-4,8; $p=0,074$) with border-line statistical significance for SCORE. Best FRS and SCORE diagnostic performance was obtained when NRTI exposure and CD4 lymphocyte count were added to both models. FRS' AUC significantly increased to 0,730 (0,660-0,800); $p<0,001$. Similarly, SCORE's AUC significantly increased to 0,757 (0,688-0,827); $p<0,001$.

CONCLUSIONS: FRS and SCORE underestimate CVD risk in HIV infected patients and they perform similarly for the diagnosis of subclinical atherosclerosis. HIV-related factors independently associated with risk underestimation are the presence of immune suppression and longer exposure to NRTI and PI. In these subjects, FRS and SCORE are more likely to underestimate CVD risk and they may benefit from other non-invasive CVD risk approaches, such as cIMT measurement. In addition, when the diagnostic performance of FRS and SCORE model was adjusted the best performance was obtained when NRTI exposure and CD4 lymphocyte count were added to both models. Thus, HIV patients may benefit from CVD risk classification models that include HIV-related factors

ABSTRACT: INCIPIENT RENAL IMPAIRMENT AS A PREDICTOR OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS IN HIV-INFECTED PATIENTS

BACKGROUND: HIV-infected patients show an increase in atherosclerosis at relatively young age and an accelerated atherosclerosis, probably due to the infection itself and undesirable effects of antiretroviral therapy. Diagnosis of subclinical atherosclerosis offers the benefit of an intensive management of the risk factors before the onset of clinical disease. The presence of mild alterations in the estimated glomerular filtration rate (GFR) and the presence of low grade albuminuria has been associated with coronary events in the general population. Measurement of the carotid intima-media thickness (cIMT) linearly correlates with the incidence of coronary events and can identify patients at increased CVD risk. However, the association between incipient renal impairment and subclinical atherosclerosis has not been properly addressed in HIV-infected patients.

OBJECTIVES AND METHODS: In order to identify HIV-infected patients at increased CVD risk, we measured the cIMT in 234 HIV-infected patients. Individuals who presented a cIMT \geq 75th percentile (0,64 mm) or in whom a plaque was demonstrated were at increased CVD risk and were classified as subjects with subclinical atherosclerosis. The remaining patients were included in the comparison group. We estimated the GFR using the Epidemiology Collaboration Group (EPI) equation. We defined incipient renal impairment (IRI) as a composite variable: rate of GFR's decrease $>3,33\%$ annually within last 3 years, GFR <90 mL/min or albumin/creatinin urine ratio \geq median (5 mg/g). We assessed by multivariate logistic model between IRI and subclinical atherosclerosis.

RESULTS: 95 (64,1%) of 145 HIV-infected patients included in the study presented IRI. Patients with IRI had a higher frequency of subclinical atherosclerosis (40,7% vs 13,7%; OR: 4,3; CI95%: 1,8-10,6; $p=0,001$). Some HIV-related factors more frequent in patients with incipient renal impairment: lipodystrophy (41,3% vs 21,6%; $p=0,013$), longer exposure to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI) (months) (187 [81-259] vs 104 [33-171,5]; $p=0,001$, to non-NRTI (NNRTI) (32 [7-77] vs 20 [0-43,25]; $p=0,043$) and to PI (42 (0-115) vs 2,5 (0-59,5); $p=0,007$). A multivariate model, controlling by age, diabetes mellitus, arterial hypertension, hypertriglyceridemia, time to HIV diagnosis, accumulated exposure to NRTI, NNRTI and PI, CD4 lymphocyte count and CRP levels. After the multivariate analysis, the presence of incipient renal impairment was independently associated with subclinical atherosclerosis (OR: 3,8; IC95%:1,3-11; $p=0,012$).

CONCLUSIONS: In our study, patients with incipient renal impairment, as determined by slight decreases in estimated GFR or low grade albuminuria, had more frequently subclinical atherosclerosis. The presence or incipient renal impairment was an independent predictor of subclinical atherosclerosis (OR: 3,8; CI95%:1,3-11) and this might be an easy and accessible way to identify patients with higher subclinical atherosclerosis and therefore, at increased CVD risk.

IX. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338(13):853-860.
- (2) May HT, Horne BD, Anderson JL, Wolfert RL, Muhlestein JB, Renlund DG et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 independently predicts the angiographic diagnosis of coronary artery disease and coronary death. *Am Heart J* 2006; 152(5):997-1003.
- (3) Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998; 12(7):F51-F58.
- (4) Dube MP, Johnson DL, Currier JS, Leedom JM. Protease inhibitor-associated hyperglycaemia. *Lancet* 1997; 350(9079):713-714.
- (5) Barbaro G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: pathogenesis and cardiovascular risk. *Am J Ther* 2006; 13(3):248-260.
- (6) d'Arminio A, Sabin CA, Phillips AN, Reiss P, Weber R, Kirk O et al. Cardio- and cerebrovascular events in HIV-infected persons. *AIDS* 2004; 18(13):1811-1817.
- (7) Kamin DS, Grinspoon SK. Cardiovascular disease in HIV-positive patients. *AIDS* 2005; 19(7):641-652.
- (8) Grover SA, Coupal L, Gilmore N, Mukherjee J. Impact of dyslipidemia associated with Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) on cardiovascular risk and life expectancy. *Am J Cardiol* 2005; 95(5):586-591.
- (9) Bozzette SA, Ake CF, Tam HK, Chang SW, Louis TA. Cardiovascular and cerebrovascular events in patients treated for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2003; 348(8):702-710.
- (10) Currier JS, Kendall MA, Henry WK, Alston-Smith B, Torriani FJ, Tebas P et al. Progression of carotid artery intima-media thickening in HIV-infected and uninfected adults. *AIDS* 2007; 21(9):1137-1145.
- (11) Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El Sadr W et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2007; 356(17):1723-1735.
- (12) Grinspoon SK, Grunfeld C, Kotler DP, Currier JS, Lundgren JD, Dube MP et al. State of the science conference: Initiative to decrease cardiovascular risk and increase quality of care for patients living with HIV/AIDS: executive summary. *Circulation* 2008; 118(2):198-210.

- (13) Mary-Krause M, Cotte L, Simon A, Partisani M, Costagliola D. Increased risk of myocardial infarction with duration of protease inhibitor therapy in HIV-infected men. *AIDS* 2003; 17(17):2479-2486.
- (14) Saves M, Chene G, Ducimetiere P, Leport C, Le Moal G, Amouyel P et al. Risk factors for coronary heart disease in patients treated for human immunodeficiency virus infection compared with the general population. *Clin Infect Dis* 2003; 37(2):292-298.
- (15) El Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med* 2006; 355(22):2283-2296.
- (16) Friis-Moller N, Weber R, Reiss P, Thiebaut R, Kirk O, d'Arminio MA et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS* 2003; 17(8):1179-1193.
- (17) Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336(14):973-979.
- (18) Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101(18):2149-2153.
- (19) Ridker PM, Koenig W, Fuster V. C-reactive protein and coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004; 351(3):295-298.
- (20) Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008; 359(21):2195-2207.
- (21) Dillmon MS, Saag MS, Hamza SH, Adler BK, Marques MB. Unusual thromboses associated with protein S deficiency in patients with acquired immunodeficiency syndrome: case reports and review of the literature. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005; 21(9):753-756.
- (22) Hadigan C, Meigs JB, Rabe J, D'Agostino RB, Wilson PW, Lipinska I et al. Increased PAI-1 and tPA antigen levels are reduced with metformin therapy in HIV-infected patients with fat redistribution and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2):939-943.
- (23) Hsue PY, Lo JC, Franklin A, Bolger AF, Martin JN, Deeks SG et al. Progression of atherosclerosis as assessed by carotid intima-media thickness in patients with HIV infection. *Circulation* 2004; 109(13):1603-1608.
- (24) Tabib A, Leroux C, Mornex JF, Loire R. Accelerated coronary atherosclerosis and arteriosclerosis in young human-immunodeficiency-virus-positive patients. *Coron Artery Dis* 2000; 11(1):41-46.
- (25) Alonso-Villaverde C, Coll B, Parra S, Montero M, Calvo N, Tous M et al. Atherosclerosis in patients infected with HIV is influenced by a mutant monocyte chemoattractant protein-1 allele. *Circulation* 2004; 110(15):2204-2209.

- (26) Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420(6917):868-874.
- (27) Birdsall HH, Trial J, Lin HJ, Green DM, Sorrentino GW, Siwak EB et al. Transendothelial migration of lymphocytes from HIV-1-infected donors: a mechanism for extravascular dissemination of HIV-1. *J Immunol* 1997; 158(12):5968-5977.
- (28) Arese M, Ferrandi C, Primo L, Camussi G, Bussolino F. HIV-1 Tat protein stimulates in vivo vascular permeability and lymphomononuclear cell recruitment. *J Immunol* 2001; 166(2):1380-1388.
- (29) Choi A, Scherzer R, Bacchetti P, Tien PC, Saag MS, Gibert CL et al. Cystatin C, Albuminuria, and 5-Year All-Cause Mortality in HIV-Infected Persons. *Am J Kidney Dis* 2010.
- (30) Park IW, Wang JF, Groopman JE. HIV-1 Tat promotes monocyte chemoattractant protein-1 secretion followed by transmigration of monocytes. *Blood* 2001; 97(2):352-358.
- (31) Liu J, Hong Y, D'Agostino RB, Sr., Wu Z, Wang W, Sun J et al. Predictive value for the Chinese population of the Framingham CHD risk assessment tool compared with the Chinese Multi-Provincial Cohort Study. *JAMA* 2004; 291(21):2591-2599.
- (32) Birdsall HH, Trial J, Lin HJ, Green DM, Sorrentino GW, Siwak EB et al. Transendothelial migration of lymphocytes from HIV-1-infected donors: a mechanism for extravascular dissemination of HIV-1. *J Immunol* 1997; 158(12):5968-5977.
- (33) Eugenin EA, Morgello S, Klotman ME, Mosoian A, Lento PA, Berman JW et al. Human immunodeficiency virus (HIV) infects human arterial smooth muscle cells in vivo and in vitro: implications for the pathogenesis of HIV-mediated vascular disease. *Am J Pathol* 2008; 172(4):1100-1111.
- (34) Chauhan A, Hahn S, Gartner S, Pardo CA, Netesan SK, McArthur J et al. Molecular programming of endothelin-1 in HIV-infected brain: role of Tat in up-regulation of ET-1 and its inhibition by statins. *FASEB J* 2007; 21(3):777-789.
- (35) Kanmogne GD, Primeaux C, Grammas P. Induction of apoptosis and endothelin-1 secretion in primary human lung endothelial cells by HIV-1 gp120 proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333(4):1107-1115.
- (36) Blanco JJ, Garcia IS, Cerezo JG, de Rivera JM, Anaya PM, Raya PG et al. Endothelial function in HIV-infected patients with low or mild cardiovascular risk. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(1):133-139.
- (37) Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000; 21(19):1574-1583.
- (38) Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kovanen PT, Kaartinen M et al. Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: potential implications for inflammation and plaque instability. *Circulation* 2000; 101(12):1372-1378.

- (39) de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107(5):690-695.
- (40) Kervinen H, Manttari M, Kaartinen M, Makynen H, Palosuo T, Pulkki K et al. Prognostic usefulness of plasma monocyte/macrophage and T-lymphocyte activation markers in patients with acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2004; 94(8):993-996.
- (41) Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105(9):1135-1143.
- (42) Mallat Z, Corbaz A, Scoazec A, Besnard S, Leseche G, Chvatchko Y et al. Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. *Circulation* 2001; 104(14):1598-1603.
- (43) Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3):363-369.
- (44) Cavusoglu E, Eng C, Chopra V, Clark LT, Pinsky DJ, Marmur JD. Low plasma RANTES levels are an independent predictor of cardiac mortality in patients referred for coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(4):929-935.
- (45) Dessein PH, Joffe BI, Singh S. Biomarkers of endothelial dysfunction, cardiovascular risk factors and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(3):R634-R643.
- (46) Shai I, Pischon T, Hu FB, Ascherio A, Rifai N, Rimm EB. Soluble intercellular adhesion molecules, soluble vascular cell adhesion molecules, and risk of coronary heart disease. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14(11):2099-2106.
- (47) Dressman J, Kincer J, Matveev SV, Guo L, Greenberg RN, Guerin T et al. HIV protease inhibitors promote atherosclerotic lesion formation independent of dyslipidemia by increasing CD36-dependent cholesteryl ester accumulation in macrophages. *J Clin Invest* 2003; 111(3):389-397.
- (48) Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27(3):503-519.
- (49) Cracowski JL, Ormezzano O. Isoprostanes, emerging biomarkers and potential mediators in cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2004; 25(19):1675-1678.
- (50) Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, von Beckerath N, Schomig A, Kastrati A. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest* 2008; 38(2):90-96.
- (51) Jiang B, Hebert VY, Li Y, Mathis JM, Alexander JS, Dugas TR. HIV antiretroviral drug combination induces endothelial mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species production, but not apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 224(1):60-71.

- (52) Holme PA, Muller F, Solum NO, Brosstad F, Froland SS, Aukrust P. Enhanced activation of platelets with abnormal release of RANTES in human immunodeficiency virus type 1 infection. *FASEB J* 1998; 12(1):79-89.
- (53) Libby P. Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl:S352-S357.
- (54) Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost* 2006; 4(6):1186-1193.
- (55) Keller TT, Choi D, Nagel C, Te VH, Gerdes VE, Wareham NJ et al. Tissue factor serum levels and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study. *J Thromb Haemost* 2006; 4(11):2391-2396.
- (56) Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, Reuterwall C, Ahlbom A, deFaire U. Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von Willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(8):2019-2023.
- (57) Muzzio ML, Miksztowicz V, Brites F, Aguilar D, Repetto EM, Wikinski R et al. Metalloproteases 2 and 9, Lp-PLA(2) and lipoprotein profile in coronary patients. *Arch Med Res* 2009; 40(1):48-53.
- (58) Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348(12):1104-1111.
- (59) Paramo JA, Beloqui O, Roncal C, Benito A, Orbe J. Validation of plasma fibrinogen as a marker of carotid atherosclerosis in subjects free of clinical cardiovascular disease. *Haematologica* 2004; 89(10):1226-1231.
- (60) Temelkova-Kurktschiev T, Koehler C, Henkel E, Hanefeld M. Leukocyte count and fibrinogen are associated with carotid and femoral intima-media thickness in a risk population for diabetes. *Cardiovasc Res* 2002; 56(2):277-283.
- (61) Francisci D, Giannini S, Baldelli F, Leone M, Belfiori B, Guglielmini G et al. HIV type 1 infection, and not short-term HAART, induces endothelial dysfunction. *AIDS* 2009; 23(5):589-596.
- (62) Murphy RL, Berzins B, Zala C, Fichtenbaum C, Dube MP, Guaraldi G et al. Change to atazanavir/ritonavir treatment improves lipids but not endothelial function in patients on stable antiretroviral therapy. *AIDS* 2009.
- (63) Amar J, Fauvel J, Drouet L, Ruidavets JB, Perret B, Chamontin B et al. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1. *J Hypertens* 2006; 24(6):1083-1088.
- (64) Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003; 349(17):1595-1604.

- (65) Chung NA, Lydakis C, Belgore F, Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Lip GY. Angiogenesis, thrombogenesis, endothelial dysfunction and angiographic severity of coronary artery disease. *Heart* 2003; 89(12):1411-1415.
- (66) Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997; 350(9075):430-436.
- (67) Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993; 171(3):223-229.
- (68) Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM, Jr. et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997; 96(12):4219-4225.
- (69) Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med* 2004; 351(25):2599-2610.
- (70) Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342(12):836-843.
- (71) Thakore AH, Guo CY, Larson MG, Corey D, Wang TJ, Vasan RS et al. Association of multiple inflammatory markers with carotid intimal medial thickness and stenosis (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2007; 99(11):1598-1602.
- (72) van Leuven SI, Hezemans R, Levels JH, Snoek S, Stokkers PC, Hovingh GK et al. Enhanced atherogenesis and altered high density lipoprotein in patients with Crohn's disease. *J Lipid Res* 2007; 48(12):2640-2646.
- (73) Bowden DW, Lange LA, Langefeld CD, Brosnihan KB, Freedman BI, Carr JJ et al. The relationship between C-reactive protein and subclinical cardiovascular disease in the Diabetes Heart Study (DHS). *Am Heart J* 2005; 150(5):1032-1038.
- (74) Leinonen ES, Hiukka A, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Sarna SS, Mattson HL et al. Low-grade inflammation, endothelial activation and carotid intima-media thickness in type 2 diabetes. *J Intern Med* 2004; 256(2):119-127.
- (75) Moussavi N, Renier G, Roussin A, Mamputu JC, Buithieu J, Serri O. Lack of concordance between plasma markers of cardiovascular risk and intima-media thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2004; 6(1):69-77.
- (76) Ross AC, Rizk N, O'Riordan MA, Dogra V, El Bejjani D, Storer N et al. Relationship between inflammatory markers, endothelial activation markers, and carotid intima-media thickness in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2009; 49(7):1119-1127.
- (77) Baker JV, Duprez D, Rapkin J, Hullsiek KH, Quick H, Grimm R et al. Untreated HIV infection and large and small artery elasticity. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 52(1):25-31.

- (78) Fisher SD, Miller TL, Lipshultz SE. Impact of HIV and highly active antiretroviral therapy on leukocyte adhesion molecules, arterial inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 185(1):1-11.
- (79) de Larranaga GF, Petroni A, Deluchi G, Alonso BS, Benetucci JA. Viral load and disease progression as responsible for endothelial activation and/or injury in human immunodeficiency virus-1-infected patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003; 14(1):15-18.
- (80) Ben Romano R, Rudich A, Etzion S, Potashnik R, Kagan E, Greenbaum U et al. Nelfinavir induces adipocyte insulin resistance through the induction of oxidative stress: differential protective effect of antioxidant agents. *Antivir Ther* 2006; 11(8):1051-1060.
- (81) Hulgán T, Morrow J, D'Aquila RT, Raffanti S, Morgan M, Rebeiro P et al. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2003; 37(12):1711-1717.
- (82) Masia M, Padilla S, Bernal E, Almenar MV, Molina J, Hernandez I et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clin Ther* 2007; 29(7):1448-1455.
- (83) Kline ER, Kleinhenz DJ, Liang B, Dikalov S, Guidot DM, Hart CM et al. Vascular oxidative stress and nitric oxide depletion in HIV-1 transgenic rats are reversed by glutathione restoration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(6):H2792-H2804.
- (84) Westendorp MO, Shatrov VA, Schulze-Osthoff K, Frank R, Kraft M, Los M et al. HIV-1 Tat potentiates TNF-induced NF-kappa B activation and cytotoxicity by altering the cellular redox state. *EMBO J* 1995; 14(3):546-554.
- (85) Chandra S, Mondal D, Agrawal KC. HIV-1 protease inhibitor induced oxidative stress suppresses glucose stimulated insulin release: protection with thymoquinone. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009; 234(4):442-453.
- (86) Aukrust P, Luna L, Ueland T, Johansen RF, Muller F, Froland SS et al. Impaired base excision repair and accumulation of oxidative base lesions in CD4+ T cells of HIV-infected patients. *Blood* 2005; 105(12):4730-4735.
- (87) Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio MA, El Sadr WM, Reiss P et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 349(21):1993-2003.
- (88) Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper DA. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet* 1999; 353(9170):2093-2099.
- (89) Klein D, Hurley LB, Quesenberry CP, Jr., Sidney S. Do protease inhibitors increase the risk for coronary heart disease in patients with HIV-1 infection? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 30(5):471-477.

- (90) Kaplan RC, Kingsley LA, Gange SJ, Benning L, Jacobson LP, Lazar J et al. Low CD4+ T-cell count as a major atherosclerosis risk factor in HIV-infected women and men. *AIDS* 2008; 22(13):1615-1624.
- (91) Periard D, Cavassini M, Taffe P, Chevalley M, Senn L, Chapuis-Taillard C et al. High prevalence of peripheral arterial disease in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis* 2008; 46(5):761-767.
- (92) Squires K, Lazzarin A, Gatell JM, Powderly WG, Pokrovskiy V, Delfraissy JF et al. Comparison of once-daily atazanavir with efavirenz, each in combination with fixed-dose zidovudine and lamivudine, as initial therapy for patients infected with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 36(5):1011-1019.
- (93) Malan DR, Krantz E, David N, Wirtz V, Hammond J, McGrath D. Efficacy and safety of atazanavir, with or without ritonavir, as part of once-daily highly active antiretroviral therapy regimens in antiretroviral-naïve patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 47(2):161-167.
- (94) Eron J, Jr., Yeni P, Gathe J, Jr., Estrada V, DeJesus E, Staszewski S et al. The KLEAN study of fosamprenavir-ritonavir versus lopinavir-ritonavir, each in combination with abacavir-lamivudine, for initial treatment of HIV infection over 48 weeks: a randomised non-inferiority trial. *Lancet* 2006; 368(9534):476-482.
- (95) Molina JM, Andrade-Villanueva J, Echevarria J, Chetchotisakd P, Corral J, David N et al. Once-daily atazanavir/ritonavir versus twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: 48 week efficacy and safety results of the CASTLE study. *Lancet* 2008; 372(9639):646-655.
- (96) Ortiz R, DeJesus E, Khanlou H, Voronin E, van Lunzen J, Andrade-Villanueva J et al. Efficacy and safety of once-daily darunavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir in treatment-naïve HIV-1-infected patients at week 48. *AIDS* 2008; 22(12):1389-1397.
- (97) Walmsley S, Avihingsanon A, Slim J, Ward DJ, Ruxrungtham K, Brunetta J et al. Gemini: a noninferiority study of saquinavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir as initial HIV-1 therapy in adults. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 50(4):367-374.
- (98) Friis-Moller N, Thiebaut R, Reiss P, Weber R, Monforte AD, De Wit S et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: the data collection on adverse effects of anti-HIV drugs study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2010; 17(5):491-501.
- (99) Shikuma CM, Yang Y, Glesby MJ, Meyer WA, III, Tashima KT, Ribaud HJ et al. Metabolic effects of protease inhibitor-sparing antiretroviral regimens given as initial treatment of HIV-1 Infection (AIDS Clinical Trials Group Study A5095). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44(5):540-550.
- (100) Haubrich RH, Riddler SA, DiRienzo AG, Komarow L, Powderly WG, Klingman K et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009; 23(9):1109-1118.

- (101) Kumar PN, Rodriguez-French A, Thompson MA, Tashima KT, Averitt D, Wannamaker PG et al. A prospective, 96-week study of the impact of Trizivir, Combivir/nelfinavir, and lamivudine/stavudine/nelfinavir on lipids, metabolic parameters and efficacy in antiretroviral-naïve patients: effect of sex and ethnicity. *HIV Med* 2006; 7(2):85-98.
- (102) Sabin CA, Worm SW, Weber R, Reiss P, El Sadr W, Dabis F et al. Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration. *Lancet* 2008; 371(9622):1417-1426.
- (103) Hsue PY, Hunt PW, Wu Y, Schnell A, Ho JE, Hatano H et al. Association of abacavir and impaired endothelial function in treated and suppressed HIV-infected patients. *AIDS* 2009; 23(15):2021-2027.
- (104) Hadigan C, Meigs JB, Wilson PW, D'Agostino RB, Davis B, Basgoz N et al. Prediction of coronary heart disease risk in HIV-infected patients with fat redistribution. *Clin Infect Dis* 2003; 36(7):909-916.
- (105) Purnell JQ, Zambon A, Knopp RH, Pizzuti DJ, Achari R, Leonard JM et al. Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects. *AIDS* 2000; 14(1):51-57.
- (106) Sankatsing RR, Wit FW, Vogel M, de Groot E, Brinkman K, Rockstroh JK et al. Increased carotid intima-media thickness in HIV patients treated with protease inhibitors as compared to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Atherosclerosis* 2009; 202(2):589-595.
- (107) Wollesen F, Berglund L, Berne C. Insulin resistance and atherosclerosis in diabetes mellitus. *Metabolism* 2002; 51(8):941-948.
- (108) Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998; 351(9119):1881-1883.
- (109) Mulligan K, Tai VW, Algren H, Abrams DI, Leiser RJ, Lo JC et al. Altered fat distribution in HIV-positive men on nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 26(5):443-448.
- (110) Murata H, Hruz PW, Mueckler M. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000; 275(27):20251-20254.
- (111) Nolte LA, Yarasheski KE, Kawanaka K, Fisher J, Le N, Holloszy JO. The HIV protease inhibitor indinavir decreases insulin- and contraction-stimulated glucose transport in skeletal muscle. *Diabetes* 2001; 50(6):1397-1401.
- (112) Ledru E, Christeff N, Patey O, de Truchis P, Melchior JC, Gougeon ML. Alteration of tumor necrosis factor- α T-cell homeostasis following potent antiretroviral therapy: contribution to the development of human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy syndrome. *Blood* 2000; 95(10):3191-3198.
- (113) Kotler DP. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated cardiovascular risk in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 49 Suppl 2:S79-S85.

- (114) Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000; 14(10):1309-1316.
- (115) Casula M, van d, V, Wit FW, Nievaard MA, Reiss P. Mitochondrial DNA assessment in adipocytes and peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients with lipodystrophy according to a validated case definition. *HIV Med* 2007; 8(1):32-37.
- (116) Caron M, Auclair M, Vigouroux C, Glorian M, Forest C, Capeau J. The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance. *Diabetes* 2001; 50(6):1378-1388.
- (117) Mallon PW, Unemori P, Sedwell R, Morey A, Rafferty M, Williams K et al. In vivo, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors alter expression of both mitochondrial and lipid metabolism genes in the absence of depletion of mitochondrial DNA. *J Infect Dis* 2005; 191(10):1686-1696.
- (118) Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(11):1978-1985.
- (119) Reaven GM, Chen YD. Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1988; 85(5A):106-112.
- (120) Conus F, Allison DB, Rabasa-Lhoret R, St Onge M, St Pierre DH, Tremblay-Lebeau A et al. Metabolic and behavioral characteristics of metabolically obese but normal-weight women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(10):5013-5020.
- (121) Richelsen B, Pedersen SB. Associations between different anthropometric measurements of fatness and metabolic risk parameters in non-obese, healthy, middle-aged men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19(3):169-174.
- (122) Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9468):1415-1428.
- (123) Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991; 34(6):416-422.
- (124) Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes* 1992; 41(6):715-722.
- (125) Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37(12):1595-1607.
- (126) Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112(17):2735-2752.
- (127) Barbaro G, Iacobellis G. Metabolic syndrome associated with HIV and highly active antiretroviral therapy. *Curr Diab Rep* 2009; 9(1):37-42.

- (128) Estrada V, Martinez-Larrad MT, Gonzalez-Sanchez JL, de Villar NG, Zabena C, Fernandez C et al. Lipodystrophy and metabolic syndrome in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy. *Metabolism* 2006; 55(7):940-945.
- (129) Palacios R, Santos J, Gonzalez M, Ruiz J, Marquez M. Incidence and prevalence of the metabolic syndrome in a cohort of naive HIV-infected patients: prospective analysis at 48 weeks of highly active antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS* 2007; 18(3):184-187.
- (130) Wand H, Calmy A, Carey DL, Samaras K, Carr A, Law MG et al. Metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus after initiation of antiretroviral therapy in HIV infection. *AIDS* 2007; 21(18):2445-2453.
- (131) Mangili A, Jacobson DL, Gerrior J, Polak JF, Gorbach SL, Wanke CA. Metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis in patients infected with HIV. *Clin Infect Dis* 2007; 44(10):1368-1374.
- (132) Adam E, Melnick JL, Probstfield JL, Petrie BL, Burek J, Bailey KR et al. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet* 1987; 2(8554):291-293.
- (133) Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Toda EE, Hashimoto H, Ohno M et al. Increased prevalence of carotid atherosclerosis in hepatitis B virus carriers. *Circulation* 2002; 105(9):1028-1030.
- (134) Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda E, Hashimoto H, Nagai R et al. Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima-media thickening. *Lancet* 2002; 359(9301):133-135.
- (135) Volzke H, Schwahn C, Wolff B, Mentel R, Robinson DM, Kleine V et al. Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis* 2004; 174(1):99-103.
- (136) Tong DY, Wang XH, Xu CF, Yang YZ, Xiong SD. Hepatitis B virus infection and coronary atherosclerosis: results from a population with relatively high prevalence of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2005; 11(9):1292-1296.
- (137) Alyan O, Kacmaz F, Ozdemir O, Deveci B, Astan R, Celebi AS et al. Hepatitis C infection is associated with increased coronary artery atherosclerosis defined by modified Reardon severity score system. *Circ J* 2008; 72(12):1960-1965.
- (138) Vassalle C, Masini S, Bianchi F, Zucchelli GC. Evidence for association between hepatitis C virus seropositivity and coronary artery disease. *Heart* 2004; 90(5):565-566.
- (139) Momiyama Y, Ohmori R, Kato R, Taniguchi H, Nakamura H, Ohsuzu F. Lack of any association between persistent hepatitis B or C virus infection and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2005; 181(1):211-213.
- (140) Bedimo R, Westfall A, Mugavero M, Dreschsler H, Khanna N, Saag M. HCV co-infection and risk of acute myocardial and cerebrovascular disease among HIV-infected patients in the pre-HAART and HAART eras. XVII International AIDS Conference 2008.(Abstract THAB0205).

- (141) Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134(2):416-423.
- (142) Hanouneh IA, Feldstein AE, Lopez R, Yerian L, Pillai A, Zein CO et al. Clinical significance of metabolic syndrome in the setting of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6(5):584-589.
- (143) Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2005; 54(7):1003-1008.
- (144) Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. *Liver Int* 2009; 29 Suppl 2:13-25.
- (145) de Larranaga GF, Wingeyer SD, Puga LM, Alonso BS, Benetucci JA. Relationship between hepatitis C virus (HCV) and insulin resistance, endothelial perturbation, and platelet activation in HIV-HCV-coinfected patients under highly active antiretroviral treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25(2):98-103.
- (146) Kawaguchi Y, Mizuta T, Oza N, Takahashi H, Ario K, Yoshimura T et al. Eradication of hepatitis C virus by interferon improves whole-body insulin resistance and hyperinsulinaemia in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2009; 29(6):871-877.
- (147) Rodriguez-Torres M, Govindarajan S, Sola R, Clumeck N, Lissen E, Pessoa M et al. Hepatic steatosis in HIV/HCV co-infected patients: correlates, efficacy and outcomes of anti-HCV therapy: a paired liver biopsy study. *J Hepatol* 2008; 48(5):756-764.
- (148) Acevedo M, Sprecher DL, Calabrese L, Pearce GL, Coyner DL, Halliburton SS et al. Pilot study of coronary atherosclerotic risk and plaque burden in HIV patients: 'a call for cardiovascular prevention'. *Atherosclerosis* 2002; 163(2):349-354.
- (149) Bongiovanni M, Casana M, Cicconi P, Pisacreta M, Codemo R, Pelucchi M et al. Predictive factors of vascular intima media thickness in HIV-positive subjects. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61(1):195-199.
- (150) Chironi G, Escaut L, Garipey J, Cogny A, Teicher E, Monsuez JJ et al. Brief report: carotid intima-media thickness in heavily pretreated HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 32(5):490-493.
- (151) Currier JS, Kendall MA, Zackin R, Henry WK, Alston-Smith B, Torriani FJ et al. Carotid artery intima-media thickness and HIV infection: traditional risk factors overshadow impact of protease inhibitor exposure. *AIDS* 2005; 19(9):927-933.
- (152) de Saint ML, Vandhuick O, Guillo P, Bellein V, Bressollette L, Roudaut N et al. Premature atherosclerosis in HIV positive patients and cumulated time of exposure to antiretroviral therapy (SHIVA study). *Atherosclerosis* 2006; 185(2):361-367.
- (153) Depairon M, Chessex S, Sudre P, Rodondi N, Doser N, Chave JP et al. Premature atherosclerosis in HIV-infected individuals--focus on protease inhibitor therapy. *AIDS* 2001; 15(3):329-334.

- (154) Johnsen S, Dolan SE, Fitch KV, Kanter JR, Hemphill LC, Connelly JM et al. Carotid intimal medial thickness in human immunodeficiency virus-infected women: effects of protease inhibitor use, cardiac risk factors, and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12):4916-4924.
- (155) Kingsley LA, Cuervo-Rojas J, Munoz A, Palella FJ, Post W, Witt MD et al. Subclinical coronary atherosclerosis, HIV infection and antiretroviral therapy: Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS* 2008; 22(13):1589-1599.
- (156) Lai S, Lima JA, Lai H, Vlahov D, Celentano D, Tong W et al. Human immunodeficiency virus 1 infection, cocaine, and coronary calcification. *Arch Intern Med* 2005; 165(6):690-695.
- (157) Lebech AM, Wiinberg N, Kristoffersen US, Hesse B, Petersen CL, Gerstoft J et al. Carotid intima-media thickness in HIV patients treated with antiretroviral therapy. *Clin Physiol Funct Imaging* 2007; 27(3):173-179.
- (158) Lekakis J, Tsiodras S, Ikonomidis I, Palios J, Poulakou G, Rallidis L et al. HIV-positive patients treated with protease inhibitors have vascular changes resembling those observed in atherosclerotic cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 2008; 115(6):189-196.
- (159) Lorenz MW, Stephan C, Harmjan A, Staszewski S, Buehler A, Bickel M et al. Both long-term HIV infection and highly active antiretroviral therapy are independent risk factors for early carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; 196(2):720-726.
- (160) Maggi P, Lillo A, Perilli F, Maserati R, Chirianni A. Colour-Doppler ultrasonography of carotid vessels in patients treated with antiretroviral therapy: a comparative study. *AIDS* 2004; 18(7):1023-1028.
- (161) Mangili A, Gerrior J, Tang AM, O'Leary DH, Polak JK, Schaefer EJ et al. Risk of cardiovascular disease in a cohort of HIV-infected adults: a study using carotid intima-media thickness and coronary artery calcium score. *Clin Infect Dis* 2006; 43(11):1482-1489.
- (162) Mercie P, Thiebaut R, Aurillac-Lavignolle V, Pellegrin JL, Yvorra-Vives MC, Cipriano C et al. Carotid intima-media thickness is slightly increased over time in HIV-1-infected patients. *HIV Med* 2005; 6(6):380-387.
- (163) Mondy KE, de las FL, Waggoner A, Onen NF, Bopp CS, Lassa-Claxton S et al. Insulin resistance predicts endothelial dysfunction and cardiovascular risk in HIV-infected persons on long-term highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2008; 22(7):849-856.
- (164) Seminari E, Pan A, Voltini G, Carnevale G, Maserati R, Minoli L et al. Assessment of atherosclerosis using carotid ultrasonography in a cohort of HIV-positive patients treated with protease inhibitors. *Atherosclerosis* 2002; 162(2):433-438.
- (165) Talwani R, Falusi OM, Mendes de Leon CF, Nerad JL, Rich S, Proia LA et al. Electron beam computed tomography for assessment of coronary artery disease in HIV-infected men receiving antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 30(2):191-195.

- (166) van Wijk JP, de Koning EJ, Cabezas MC, Joven J, op't RJ, Rabelink TJ et al. Functional and structural markers of atherosclerosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(6):1117-1123.
- (167) Yaldizli O, Kastrup O, Obermann M, Esser S, Wilhelm H, Ley C et al. Carotid intima-media thickness in HIV-infected individuals: relationship of premature atherosclerosis to neuropsychological deficits? *Eur Neurol* 2006; 55(3):166-171.
- (168) Folsom AR, Kronmal RA, Detrano RC, O'Leary DH, Bild DE, Bluemke DA et al. Coronary artery calcification compared with carotid intima-media thickness in the prediction of cardiovascular disease incidence: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med* 2008; 168(12):1333-1339.
- (169) Touboul PJ, Labreuche J, Vicaud E, Amarenco P. Carotid intima-media thickness, plaques, and Framingham risk score as independent determinants of stroke risk. *Stroke* 2005; 36(8):1741-1745.
- (170) Faxon DP, Fuster V, Libby P, Beckman JA, Hiatt WR, Thompson RW et al. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group III: pathophysiology. *Circulation* 2004; 109(21):2617-2625.
- (171) Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362(6423):801-809.
- (172) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106(25):3143-3421.
- (173) Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G et al. [ESH/ESC 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension]. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60(9):968-994.
- (174) Jackson R, Lawes CM, Bennett DA, Milne RJ, Rodgers A. Treatment with drugs to lower blood pressure and blood cholesterol based on an individual's absolute cardiovascular risk. *Lancet* 2005; 365(9457):434-441.
- (175) Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, May M, Brindle P. Derivation and validation of QRISK, a new cardiovascular disease risk score for the United Kingdom: prospective open cohort study. *BMJ* 2007; 335(7611):136.
- (176) Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, Minhas R, Sheikh A et al. Predicting cardiovascular risk in England and Wales: prospective derivation and validation of QRISK2. *BMJ* 2008; 336(7659):1475-1482.
- (177) Stevens RJ, Kothari V, Adler AI, Stratton IM. The UKPDS risk engine: a model for the risk of coronary heart disease in Type II diabetes (UKPDS 56). *Clin Sci (Lond)* 2001; 101(6):671-679.
- (178) Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation* 2002; 105(3):310-315.

- (179) Wallis EJ, Ramsay LE, UI H, I, Ghahramani P, Jackson PR, Rowland-Yeo K et al. Coronary and cardiovascular risk estimation for primary prevention: validation of a new Sheffield table in the 1995 Scottish health survey population. *BMJ* 2000; 320(7236):671-676.
- (180) Pocock SJ, McCormack V, Gueyffier F, Boutitie F, Fagard RH, Boissel JP. A score for predicting risk of death from cardiovascular disease in adults with raised blood pressure, based on individual patient data from randomised controlled trials. *BMJ* 2001; 323(7304):75-81.
- (181) D'Agostino RB, Sr., Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA* 2001; 286(2):180-187.
- (182) D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117(6):743-753.
- (183) Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97(18):1837-1847.
- (184) Bastuji-Garin S, Deverly A, Moyse D, Castaigne A, Mancina G, de Leeuw PW et al. The Framingham prediction rule is not valid in a European population of treated hypertensive patients. *J Hypertens* 2002; 20(10):1973-1980.
- (185) Brindle P, Emberson J, Lampe F, Walker M, Whincup P, Fahey T et al. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. *BMJ* 2003; 327(7426):1267.
- (186) Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003; 24(11):987-1003.
- (187) Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Eur Heart J* 2007; 28(19):2375-2414.
- (188) Tomas AL, Varas LC, Perez I, Puig T, Balaguer V, I. [Risk factors and coronary morbimortality in a Mediterranean industrial cohort over 28 years of follow-up. The Manresa Study]. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54(10):1146-1154.
- (189) Perez G, Pena A, Sala J, Roset P, Masia R, Marrugat J. Acute myocardial infarction case fatality, incidence and mortality rates in a population registry in Gerona, Spain, 1990-1992. REGICOR Investigators. *Int J Epidemiol* 1998; 27(4):599-604.
- (190) Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan L, Ordovas J, Cordon F et al. [Coronary risk estimation in Spain using a calibrated Framingham function]. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56(3):253-261.
- (191) Touboul PJ, Vicaud E, Labreuche J, Belliard JP, Cohen S, Kownator S et al. Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: the Paroi Arterielle et Risque Cardio-vasculaire (PARC) study. *Atherosclerosis* 2007; 192(2):363-369.

- (192) Law MG, Friis-Moller N, El Sadr WM, Weber R, Reiss P, d'Arminio MA et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV Med* 2006; 7(4):218-230.
- (193) Parra S, Coll B, Aragones G, Marsillach J, Beltran R, Rull A et al. Nonconcordance between subclinical atherosclerosis and the calculated Framingham risk score in HIV-infected patients: relationships with serum markers of oxidation and inflammation. *HIV Med* 2009.
- (194) Joint British recommendations on prevention of coronary heart disease in clinical practice: summary. British Cardiac Society, British Hyperlipidaemia Association, British Hypertension Society, British Diabetic Association. *BMJ* 2000; 320(7236):705-708.
- (195) Sans S, Fitzgerald AP, Royo D, Conroy R, Graham I. Calibrating the SCORE cardiovascular risk chart for use in Spain. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60(5):476-485.
- (196) Lobos JM, Royo-Bordonada MA, Brotons C, Alvarez-Sala L, Armario P, Maiques A et al. [European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: CEIPC 2008 Spanish adaptation]. *Rev Esp Salud Publica* 2008; 82(6):581-616.
- (197) Magnus P, Beaglehole R. The real contribution of the major risk factors to the coronary epidemics: time to end the "only-50%" myth. *Arch Intern Med* 2001; 161(22):2657-2660.
- (198) Akosah KO, Schaper A, Cogbill C, Schoenfeld P. Preventing myocardial infarction in the young adult in the first place: how do the National Cholesterol Education Panel III guidelines perform? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(9):1475-1479.
- (199) Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3 Suppl):II56-II65.
- (200) Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74(6):1399-1406.
- (201) Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997; 146(6):483-494.
- (202) Fujiwara S, Emoto M, Komatsu M, Motoyama K, Morioka T, Koyama H et al. Arterial wall thickness is associated with insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10(4):246-252.
- (203) Hollander M, Hak AE, Koudstaal PJ, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A et al. Comparison between measures of atherosclerosis and risk of stroke: the Rotterdam Study. *Stroke* 2003; 34(10):2367-2372.
- (204) Iglesias dS, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JC. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction; The Rotterdam Study. *Eur Heart J* 2002; 23(12):934-940.

- (205) Jadhav UM, Kadam NN. Association of microalbuminuria with carotid intima-media thickness and coronary artery disease--a cross-sectional study in Western India. *J Assoc Physicians India* 2002; 50:1124-1129.
- (206) Kitamura A, Iso H, Imano H, Ohira T, Okada T, Sato S et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke* 2004; 35(12):2788-2794.
- (207) Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2006; 37(1):87-92.
- (208) McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ, Heiss G, Golden SH, Duncan BB et al. Prevalence of coronary heart disease and carotid arterial thickening in patients with the metabolic syndrome (The ARIC Study). *Am J Cardiol* 2004; 94(10):1249-1254.
- (209) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340(1):14-22.
- (210) Rosvall M, Janzon L, Berglund G, Engstrom G, Hedblad B. Incidence of stroke is related to carotid IMT even in the absence of plaque. *Atherosclerosis* 2005; 179(2):325-331.
- (211) Singh TP, Groehn H, Kazmers A. Vascular function and carotid intimal-medial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(4):661-665.
- (212) Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997; 96(5):1432-1437.
- (213) Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007; 115(4):459-467.
- (214) Rosvall M, Janzon L, Berglund G, Engstrom G, Hedblad B. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med* 2005; 257(5):430-437.
- (215) Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrand J. Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery. *Arterioscler Thromb* 1992; 12(1):70-77.
- (216) Chambless LE, Folsom AR, Davis V, Sharrett R, Heiss G, Sorlie P et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987-1998. *Am J Epidemiol* 2002; 155(1):38-47.
- (217) Coll B, Alonso-Villaverde C, Masana L. Influence of inflammatory variables on intima-media thickness. *Stroke* 2008; 39(1):e16.

- (218) Coll B, Feinstein SB. Carotid intima-media thickness measurements: techniques and clinical relevance. *Curr Atheroscler Rep* 2008; 10(5):444-450.
- (219) Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18(4):346-349.
- (220) Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23(1):75-80.
- (221) Junyent M, Gilabert R, Nunez I, Corbella E, Vela M, Zambon D et al. [Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort]. *Med Clin (Barc)* 2005; 125(20):770-774.
- (222) Hsue PY, Giri K, Erickson S, MacGregor JS, Younes N, Shergill A et al. Clinical features of acute coronary syndromes in patients with human immunodeficiency virus infection. *Circulation* 2004; 109(3):316-319.
- (223) Robinson FP, Hoff JA, Kondos GT. Coronary artery calcium in HIV-infected men treated with highly active antiretroviral therapy. *J Cardiovasc Nurs* 2005; 20(3):149-154.
- (224) Carr A. Cardiovascular risk factors in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 34 Suppl 1:S73-S78.
- (225) Hulten E, Mitchell J, Scally J, Gibbs B, Villines TC. HIV positivity, protease inhibitor exposure and subclinical atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Heart* 2009; 95(22):1826-1835.
- (226) Noor MA. The role of protease inhibitors in the pathogenesis of HIV-associated insulin resistance: cellular mechanisms and clinical implications. *Curr HIV /AIDS Rep* 2007; 4(3):126-134.
- (227) Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke* 1993; 24(9):1297-1304.
- (228) Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F. Carotid intima-media thickness in subjects with no cardiovascular risk factors. *Rev Esp Cardiol* 2010; 63(1):97-102.
- (229) Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21(2):93-111.
- (230) Barbaro G, Barbarini G, Pellicelli AM. HIV-associated coronary arteritis in a patient with fatal myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344(23):1799-1800.

- (231) Ellis RW. Infection and coronary heart disease. *J Med Microbiol* 1997; 46(7):535-539.
- (232) Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke* 2003; 34(5):1203-1206.
- (233) Westerhof N, O'Rourke MF. Haemodynamic basis for the development of left ventricular failure in systolic hypertension and for its logical therapy. *J Hypertens* 1995; 13(9):943-952.
- (234) Ohtsuka S, Kakihana M, Watanabe H, Sugishita Y. Chronically decreased aortic distensibility causes deterioration of coronary perfusion during increased left ventricular contraction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24(5):1406-1414.
- (235) Blacher J, Safar ME, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Aortic pulse wave velocity index and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003; 63(5):1852-1860.
- (236) Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MA et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation* 2006; 113(5):657-663.
- (237) Stork S, van den Beld AW, von Schacky C, Angermann CE, Lamberts SW, Grobbee DE et al. Carotid artery plaque burden, stiffness, and mortality risk in elderly men: a prospective, population-based cohort study. *Circulation* 2004; 110(3):344-348.
- (238) Blacher J, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease. *Hypertension* 1998; 32(3):570-574.
- (239) Sutton-Tyrrell K, Najjar SS, Boudreau RM, Venkitachalam L, Kupelian V, Simonsick EM et al. Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults. *Circulation* 2005; 111(25):3384-3390.
- (240) Shroff GR, Cen YY, Duprez DA, Bart BA. Relationship between carotid artery stiffness index, BNP and high-sensitivity CRP. *J Hum Hypertens* 2009; 23(12):783-787.
- (241) Budoff MJ, Diamond GA, Raggi P, Arad Y, Guerci AD, Callister TQ et al. Continuous probabilistic prediction of angiographically significant coronary artery disease using electron beam tomography. *Circulation* 2002; 105(15):1791-1796.
- (242) Blakenhorn DH, Stern D. Calcification of the coronary arteries. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1959; 81(5):772-777.
- (243) Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Jr., Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15(4):827-832.
- (244) Budoff MJ, Georgiou D, Brody A, Agatston AS, Kennedy J, Wolfkiel C et al. Ultrafast computed tomography as a diagnostic modality in the detection of coronary artery disease: a multicenter study. *Circulation* 1996; 93(5):898-904.

- (245) Haberl R, Becker A, Leber A, Knez A, Becker C, Lang C et al. Correlation of coronary calcification and angiographically documented stenoses in patients with suspected coronary artery disease: results of 1,764 patients. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37(2):451-457.
- (246) Kajinami K, Seki H, Takekoshi N, Mabuchi H. Coronary calcification and coronary atherosclerosis: site by site comparative morphologic study of electron beam computed tomography and coronary angiography. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29(7):1549-1556.
- (247) Nichols WW. Clinical measurement of arterial stiffness obtained from noninvasive pressure waveforms. *Am J Hypertens* 2005; 18(1 Pt 2):3S-10S.
- (248) Lo J, Abbara S, Shturman L, Soni A, Wei J, Rocha-Filho JA et al. Increased prevalence of subclinical coronary atherosclerosis detected by coronary computed tomography angiography in HIV-infected men. *AIDS* 2010; 24(2):243-253.
- (249) Budoff MJ, Lane KL, Bakhsheshi H, Mao S, Grassmann BO, Friedman BC et al. Rates of progression of coronary calcium by electron beam tomography. *Am J Cardiol* 2000; 86(1):8-11.
- (250) Newman AB, Siscovick DS, Manolio TA, Polak J, Fried LP, Borhani NO et al. Ankle-arm index as a marker of atherosclerosis in the Cardiovascular Health Study. Cardiovascular Health Study (CHS) Collaborative Research Group. *Circulation* 1993; 88(3):837-845.
- (251) Resnick HE, Lindsay RS, McDermott MM, Devereux RB, Jones KL, Fabsitz RR et al. Relationship of high and low ankle brachial index to all-cause and cardiovascular disease mortality: the Strong Heart Study. *Circulation* 2004; 109(6):733-739.
- (252) Duong M, Cottin Y, Piroth L, Fargeot A, Lhuiller I, Bobillier M et al. Exercise stress testing for detection of silent myocardial ischemia in human immunodeficiency virus-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2002; 34(4):523-528.
- (253) Lebech AM, Kristoffersen US, Wiinberg N, Kofoed K, Andersen O, Hesse B et al. Coronary and peripheral endothelial function in HIV patients studied with positron emission tomography and flow-mediated dilation: relation to hypercholesterolemia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35(11):2049-2058.
- (254) de Lemos JA, Lloyd-Jones DM. Multiple biomarker panels for cardiovascular risk assessment. *N Engl J Med* 2008; 358(20):2172-2174.
- (255) Wilson PW, Smith SC, Jr., Blumenthal RS, Burke GL, Wong ND. 34th Bethesda Conference: Task force #4--How do we select patients for atherosclerosis imaging? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(11):1898-1906.
- (256) Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, D'Agostino RB, Beiser A, Wilson PW et al. Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. *Circulation* 2006; 113(6):791-798.
- (257) Cook NR. Use and misuse of the receiver operating characteristic curve in risk prediction. *Circulation* 2007; 115(7):928-935.

- (258) Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P. Narrative review: Assessment of C-reactive protein in risk prediction for cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2006; 145(1):35-42.
- (259) Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., D'Agostino RB, Jr., Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med* 2008; 27(2):157-172.
- (260) Pepe MS, Janes H, Longton G, Leisenring W, Newcomb P. Limitations of the odds ratio in gauging the performance of a diagnostic, prognostic, or screening marker. *Am J Epidemiol* 2004; 159(9):882-890.
- (261) Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2004; 350(7):655-663.
- (262) Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA* 2005; 293(14):1737-1745.
- (263) Blankenberg S, McQueen MJ, Smieja M, Pogue J, Balion C, Lonn E et al. Comparative impact of multiple biomarkers and N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in the context of conventional risk factors for the prediction of recurrent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation* 2006; 114(3):201-208.
- (264) Zethelius B, Berglund L, Sundstrom J, Ingelsson E, Basu S, Larsson A et al. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2008; 358(20):2107-2116.
- (265) Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB et al. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 2005; 352(20):2049-2060.
- (266) Galasko GI, Lahiri A, Barnes SC, Collinson P, Senior R. What is the normal range for N-terminal pro-brain natriuretic peptide? How well does this normal range screen for cardiovascular disease? *Eur Heart J* 2005; 26(21):2269-2276.
- (267) Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA* 2005; 293(13):1609-1616.
- (268) Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M et al. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation* 2000; 102(11):1216-1220.
- (269) Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, Das SR, Khera A, McGuire DK et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation* 2006; 113(16):1958-1965.
- (270) Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, Sugamura K, Ohba K, Matsuzawa Y et al. Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk

- stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(7):601-608.
- (271) Rader DJ. Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med* 2000; 343(16):1179-1182.
- (272) Humphries SE, Luong LA, Montgomery HE, Day IN, Mohamed-Ali V, Yudkin JS. Gene-environment interaction in the determination of levels of plasma fibrinogen. *Thromb Haemost* 1999; 82(2):818-825.
- (273) Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000; 32(4):274-278.
- (274) Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 389:39-48.
- (275) Anderson JL, Carlquist JF, Muhlestein JB, Horne BD, Elmer SP. Evaluation of C-reactive protein, an inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32(1):35-41.
- (276) Sakkinen P, Abbott RD, Curb JD, Rodriguez BL, Yano K, Tracy RP. C-reactive protein and myocardial infarction. *J Clin Epidemiol* 2002; 55(5):445-451.
- (277) Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, Domanski MJ et al. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2007; 115(12):1528-1536.
- (278) Zebrack JS, Muhlestein JB, Horne BD, Anderson JL. C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(4):632-637.
- (279) Khera A, de Lemos JA, Peshock RM, Lo HS, Stanek HG, Murphy SA et al. Relationship between C-reactive protein and subclinical atherosclerosis: the Dallas Heart Study. *Circulation* 2006; 113(1):38-43.
- (280) Arroyo-Espiguero R, Avanzas P, Cosin-Sales J, Aldama G, Pizzi C, Kaski JC. C-reactive protein elevation and disease activity in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2004; 25(5):401-408.
- (281) Bogaty P, Poirier P, Simard S, Boyer L, Solymoss S, Dagenais GR. Biological profiles in subjects with recurrent acute coronary events compared with subjects with long-standing stable angina. *Circulation* 2001; 103(25):3062-3068.
- (282) Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997; 349(9050):462-466.
- (283) Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients

- with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998; 98(9):839-844.
- (284) Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995; 332(10):635-641.
- (285) Tomoda H, Aoki N. Prognostic value of C-reactive protein levels within six hours after the onset of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2000; 140(2):324-328.
- (286) Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Buffon A et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999; 99(7):855-860.
- (287) Heeschen C, Hamm CW, Bruemmer J, Simoons ML. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 AntiPlatelet Therapy in Unstable angina Refractory to standard treatment trial. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35(6):1535-1542.
- (288) James SK, Armstrong P, Barnathan E, Califf R, Lindahl B, Siegbahn A et al. Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome: a GUSTO-IV substudy. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(6):916-924.
- (289) Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2000; 343(16):1139-1147.
- (290) Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuzzi AG, Pepys MB et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331(7):417-424.
- (291) Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction*. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(7):1460-1465.
- (292) Toss H, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L. Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *Circulation* 1997; 96(12):4204-4210.
- (293) Suleiman M, Aronson D, Reisner SA, Kapeliovich MR, Markiewicz W, Levy Y et al. Admission C-reactive protein levels and 30-day mortality in patients with acute myocardial infarction. *Am J Med* 2003; 115(9):695-701.
- (294) Suleiman M, Khatib R, Agmon Y, Mahamid R, Boulos M, Kapeliovich M et al. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction predictive role of C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(5):962-968.

- (295) Milazzo D, Biasucci LM, Luciani N, Martinelli L, Canosa C, Schiavello R et al. Elevated levels of C-reactive protein before coronary artery bypass grafting predict recurrence of ischemic events. *Am J Cardiol* 1999; 84(4):459-61, A9.
- (296) Buffon A, Liuzzo G, Biasucci LM, Pasqualetti P, Ramazzotti V, Rebuszi AG et al. Preprocedural serum levels of C-reactive protein predict early complications and late restenosis after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(5):1512-1521.
- (297) Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation* 2002; 105(22):2595-2599.
- (298) De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J* 2003; 24(17):1601-1610.
- (299) Grundy SM, Cleeman JJ, Merz CN, Brewer HB, Jr., Clark LT, Hunninghake DB et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004; 110(2):227-239.
- (300) Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 2004; 109(7):837-842.
- (301) Koenig W, Lowel H, Baumert J, Meisinger C. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation* 2004; 109(11):1349-1353.
- (302) Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001; 103(13):1813-1818.
- (303) Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347(20):1557-1565.
- (304) Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001; 286(1):64-70.
- (305) Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med* 2001; 344(26):1959-1965.
- (306) Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Wiviott SD, Blazing MA, Shui A et al. Clinical relevance of C-reactive protein during follow-up of patients with acute coronary syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trial. *Circulation* 2006; 114(4):281-288.
- (307) Ridker PM, Morrow DA, Rose LM, Rifai N, Cannon CP, Braunwald E. Relative efficacy of atorvastatin 80 mg and pravastatin 40 mg in achieving the dual goals of low-

- density lipoprotein cholesterol <70 mg/dl and C-reactive protein <2 mg/l: an analysis of the PROVE-IT TIMI-22 trial. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(10):1644-1648.
- (308) Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH et al. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 2005; 352(1):20-28.
- (309) Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, III, Criqui M et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107(3):499-511.
- (310) Reilly MP, Wolfe ML, Localio AR, Rader DJ. C-reactive protein and coronary artery calcification: The Study of Inherited Risk of Coronary Atherosclerosis (SIRCA). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(10):1851-1856.
- (311) Jenny NS, Brown ER, Detrano R, Folsom AR, Saad MF, Shea S et al. Associations of inflammatory markers with coronary artery calcification: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2010; 209(1):226-229.
- (312) Kim DJ, Choi SH, Kim SH, Chung SS, Ahn CW, Cha BS et al. High Sensitive C-reactive Protein and Carotid Intima Media Thickness in Korean Population. *J Korean Diabetes Assoc* 2003; 27(1):49-62.
- (313) Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Katakami N, Ohtoshi K, Gorogawa S, Kuroda A et al. Elevated C-reactive protein associates with early-stage carotid atherosclerosis in young subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25(8):1432-1438.
- (314) Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Pineiro A, Garcia-Porrua C, Testa A, Llorca J. High-grade C-reactive protein elevation correlates with accelerated atherogenesis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32(7):1219-1223.
- (315) Baldassarre D, De Jong A, Amato M, Werba JP, Castelnuovo S, Frigerio B et al. Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis. *Ann Med* 2008; 40(1):21-44.
- (316) Klezovitch O, Edelstein C, Scanu AM. Stimulation of interleukin-8 production in human THP-1 macrophages by apolipoprotein(a). Evidence for a critical involvement of elements in its C-terminal domain. *J Biol Chem* 2001; 276(50):46864-46869.
- (317) Syrovets T, Thillet J, Chapman MJ, Simmet T. Lipoprotein(a) is a potent chemoattractant for human peripheral monocytes. *Blood* 1997; 90(5):2027-2036.
- (318) Takami S, Yamashita S, Kihara S, Ishigami M, Takemura K, Kume N et al. Lipoprotein(a) enhances the expression of intercellular adhesion molecule-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Circulation* 1998; 97(8):721-728.
- (319) Tsironis LD, Mitsios JV, Milionis HJ, Elisaf M, Tselepis AD. Effect of lipoprotein (a) on platelet activation induced by platelet-activating factor: role of apolipoprotein (a) and endogenous PAF-acetylhydrolase. *Cardiovasc Res* 2004; 63(1):130-138.

- (320) Tsimikas S, Tsironis LD, Tselepis AD. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(10):2094-2099.
- (321) MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J* 1999; 338 (Pt 2):479-487.
- (322) Lavi S, McConnell JP, Rihal CS, Prasad A, Mathew V, Lerman LO et al. Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2007; 115(21):2715-2721.
- (323) Kolodgie FD, Burke AP, Skorija KS, Ladich E, Kutys R, Makuria AT et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(11):2523-2529.
- (324) Arden CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Church TS, Blair SN. Revised Adult Treatment Panel III guidelines and cardiovascular disease mortality in men attending a preventive medical clinic. *Circulation* 2005; 112(10):1478-1485.
- (325) Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38(5):1302-1306.
- (326) Oei HH, van dM, I, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation* 2005; 111(5):570-575.
- (327) Daniels LB, Laughlin GA, Sarno MJ, Bettencourt R, Wolfert RL, Barrett-Connor E. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(9):913-919.
- (328) Kiechl S, Willeit J, Mayr M, Viehweider B, Oberhollenzer M, Kronenberg F et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(8):1788-1795.
- (329) Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(7):1586-1593.
- (330) Robins SJ, Collins D, Nelson JJ, Bloomfield HE, Asztalos BF. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A(2) and low high-density lipoprotein-cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(6):1172-1178.

- (331) Furie KM, Parides MK, Greer DM CE, Singhal AB, Lederer M, Hagan N et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity predicts early stroke recurrence. *Stroke* 2007 [382s:458] (Abstract).
- (332) Jenny NS, Solomon C, Cushman M, Tracy RP, Nelson JJ, Psaty BM et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) (Lp-PLA(2)) and risk of cardiovascular disease in older adults: results from the Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis* 2010; 209(2):528-532.
- (333) Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343(16):1148-1155.
- (334) Wassertheil-Smoller S, Kooperberg C, McGinn AP, Kaplan RC, Hsia J, Hendrix SL et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, hormone use, and the risk of ischemic stroke in postmenopausal women. *Hypertension* 2008; 51(4):1115-1122.
- (335) Blankenberg S, Stengel D, Rupprecht HJ, Bickel C, Meyer J, Cambien F et al. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease: results of a cross-sectional analysis. *J Lipid Res* 2003; 44(7):1381-1386.
- (336) Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, Elesber AA, Meyer JG, Berger PB. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur Heart J* 2005; 26(2):137-144.
- (337) Gerber Y, McConnell JP, Jaffe AS, Weston SA, Killian JM, Roger VL. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and prognosis after myocardial infarction in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(11):2517-2522.
- (338) O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, McCabe CH, Cannon CP et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation* 2006; 113(14):1745-1752.
- (339) Oldgren J, James SK, Siegbahn A, Wallentin L. Lipoprotein-associated phospholipase A2 does not predict mortality or new ischaemic events in acute coronary syndrome patients. *Eur Heart J* 2007; 28(6):699-704.
- (340) Mockel M, Muller R, Vollert JO, Muller C, Danne O, Gareis R et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study-II (NOBIS-II). *Clin Res Cardiol* 2007; 96(9):604-612.
- (341) Sabatine MS, Morrow DA, O'Donoghue M, Jablonski KA, Rice MM, Solomon S et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(11):2463-2469.

- (342) Hatoum NJ, Nelson JJ, Rexrode K, Manson J, Rimm EB. Lipoprotein-phospholipase associated A2 and myocardial infarction among women. *Circulation* 2007 [116:II], 818. (Abstract 3605).
- (343) Jenny NS, Salomon C, Cusman M, Tracy RP, Nelson JJ, Psaty BM et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA(2)) and risk of cardiovascular disease in older adults: results from the Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis* 2010; 209(2):528-532.
- (344) Caslake MJ, Packard CJ, Robertson M, Cooney J, Nelson JJ, Ford I et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), inflammatory biomarkers, and risk of cardiovascular disease in the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER). *Atherosclerosis* 2010; 210(1):28-34.
- (345) Kardys I, Oei HH, Hofman A, Oudkerk M, Witteman JC. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and coronary calcification. The Rotterdam Coronary Calcification Study. *Atherosclerosis* 2007; 191(2):377-383.
- (346) Folsom AR, Chambless LE, Ballantyne CM, Coresh J, Heiss G, Wu KK et al. An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med* 2006; 166(13):1368-1373.
- (347) Nambi V, Hoogeveen RC, Chambless L, Hu Y, Bang H, Coresh J et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and high-sensitivity C-reactive protein improve the stratification of ischemic stroke risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke* 2009; 40(2):376-381.
- (348) Khuseynova N, Greven S, Ruckerl R, Trischler G, Loewel H, Peters A et al. Variability of serial lipoprotein-associated phospholipase A2 measurements in post myocardial infarction patients: results from the AIRGENE Study Center Augsburg. *Clin Chem* 2008; 54(1):124-130.
- (349) Corson MA, Jones PH, Davidson MH. Review of the evidence for the clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a cardiovascular risk marker. *Am J Cardiol* 2008; 101(12A):41F-50F.
- (350) McConnell JP, Hoefner DM. Lipoprotein-associated phospholipase A2. *Clin Lab Med* 2006; 26(3):679-697.
- (351) Persson M, Hedblad B, Nelson JJ, Berglund G. Elevated Lp-PLA2 levels add prognostic information to the metabolic syndrome on incidence of cardiovascular events among middle-aged nondiabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(6):1411-1416.
- (352) Lanman RB, Wolfert RL, Fleming JK, Jaffe AS, Roberts WL, Warnick GR et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2: review and recommendation of a clinical cut point for adults. *Prev Cardiol* 2006; 9(3):138-143.
- (353) Hakkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, MacPhee CH, Milliner KJ, Patel L et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(12):2909-2917.

- (354) Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101(15):1767-1772.
- (355) Waldo SW, Beede J, Isakson S, Villard-Saussine S, Fareh J, Clopton P et al. Pro-B-type natriuretic peptide levels in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(19):1874-1882.
- (356) Barbaro G, Di Lorenzo G, Grisorio B, Barbarini G. Cardiac involvement in the acquired immunodeficiency syndrome: a multicenter clinical-pathological study. Gruppo Italiano per lo Studio Cardiologico dei pazienti affetti da AIDS Investigators. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14(12):1071-1077.
- (357) Mansoor A, Althoff K, Gange S, Anastos K, DeHovitz J, Minkoff H et al. Elevated NT-pro-BNP levels are associated with comorbidities among HIV-infected women. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25(10):997-1004.
- (358) Bessman SP, Carpenter CL. The creatine-creatine phosphate energy shuttle. *Annu Rev Biochem* 1985; 54:831-862.
- (359) Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997; 96(4):1102-1108.
- (360) Stec JJ, Silbershatz H, Tofler GH, Matheney TH, Sutherland P, Lipinska I et al. Association of fibrinogen with cardiovascular risk factors and cardiovascular disease in the Framingham Offspring Population. *Circulation* 2000; 102(14):1634-1638.
- (361) Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294(14):1799-1809.
- (362) Smith A, Patterson C, Yarnell J, Rumley A, Ben Shlomo Y, Lowe G. Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The Caerphilly Study. *Circulation* 2005; 112(20):3080-3087.
- (363) McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2(4):386-389.
- (364) Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114(5):473-501.
- (365) Sramek A, Kriek M, Rosendaal FR. Decreased mortality of ischaemic heart disease among carriers of haemophilia. *Lancet* 2003; 362(9381):351-354.
- (366) Gupta SK, Eustace JA, Winston JA, Boydston II, Ahuja TS, Rodriguez RA et al. Guidelines for the management of chronic kidney disease in HIV-infected patients: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2005; 40(11):1559-1585.
- (367) Diagnóstico, tratamiento y prevención de las alteraciones renales en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Recomendaciones del Grupo

- de Estudio del Sida/Plan Nacional sobre el Sida. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28(8):520-522.
- (368) Gardner LI, Holmberg SD, Williamson JM, Szczech LA, Carpenter CC, Rompalo AM et al. Development of proteinuria or elevated serum creatinine and mortality in HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 32(2):203-209.
 - (369) Lucas GM, Eustace JA, Sozio S, Mentari EK, Appiah KA, Moore RD. Highly active antiretroviral therapy and the incidence of HIV-1-associated nephropathy: a 12-year cohort study. *AIDS* 2004; 18(3):541-546.
 - (370) Wali RK, Drachenberg CI, Papadimitriou JC, Keay S, Ramos E. HIV-1-associated nephropathy and response to highly-active antiretroviral therapy. *Lancet* 1998; 352(9130):783-784.
 - (371) Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6):461-470.
 - (372) Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2006; 145(4):247-254.
 - (373) Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, III, Feldman HI et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150(9):604-612.
 - (374) Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M et al. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis* 2010; 56(3):486-495.
 - (375) Matsushita K, Selvin E, Bash LD, Astor BC, Coresh J. Risk implications of the new CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation compared with the MDRD Study equation for estimated GFR: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(4):648-659.
 - (376) White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC, Chadban SJ. Comparison of the prevalence and mortality risk of CKD in Australia using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study GFR estimating equations: the AusDiab (Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle) Study. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(4):660-670.
 - (377) Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA* 2001; 286(4):421-426.
 - (378) Matsushita K, van d, V, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375(9731):2073-2081.

- (379) Arnlov J, Evans JC, Meigs JB, Wang TJ, Fox CS, Levy D et al. Low-grade albuminuria and incidence of cardiovascular disease events in nonhypertensive and nondiabetic individuals: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005; 112(7):969-975.
- (380) Gupta SK, Parker RA, Robbins GK, Dube MP. The effects of highly active antiretroviral therapy on albuminuria in HIV-infected persons: results from a randomized trial. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(10):2237-2242.
- (381) Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40(2):221-226.
- (382) Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A et al. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2000; 36(1):29-34.
- (383) Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(10):2024-2031.
- (384) Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, Feldman HI, Froissart M, Kusek J et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis* 2008; 51(3):395-406.
- (385) Mocroft A, Wyatt C, Szczech L, Neuhaus J, El Sadr W, Tracy R et al. Interruption of antiretroviral therapy is associated with increased plasma cystatin C. *AIDS* 2009; 23(1):71-82.
- (386) Tien PC, Benson C, Zolopa AR, Sidney S, Osmond D, Grunfeld C. The study of fat redistribution and metabolic change in HIV infection (FRAM): methods, design, and sample characteristics. *Am J Epidemiol* 2006; 163(9):860-869.
- (387) Secil M, Altay C, Gulcu A, Cece H, Goktay AY, Dicle O. Automated measurement of intima-media thickness of carotid arteries in ultrasonography by computer software. *Diagn Interv Radiol* 2005; 11(2):105-108.
- (388) Medrano MJ, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodriguez M. [Factores de riesgo cardiovascular en la población española: metaanálisis de estudios transversales]. *Med Clin (Barc)* 2005; 124(16):606-612.
- (389) Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Encuesta Nacional de Salud, 2004. (<http://www.mspsi.es>).
- (390) Fuster M, Estrada V, Fernandez-Pinilla MC, Fuentes-Ferrer ME, Tellez MJ, Vergas J et al. Smoking cessation in HIV patients: rate of success and associated factors. *HIV Med* 2009; 10(10):614-619.
- (391) Dzau V, Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement. *Am Heart J* 1991; 121(4 Pt 1):1244-1263.
- (392) Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA* 1991; 265(14):1861-1867.

- (393) Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56(25):2182-2199.
- (394) Rhodes PG. Ability of Lp-PLA2 to correctly identify women with elevated carotid IMT. 2009.
- (395) Ho JE, Deeks SG, Hecht FM, Xie Y, Schnell A, Martin JN et al. Initiation of antiretroviral therapy at higher nadir CD4+ T-cell counts is associated with reduced arterial stiffness in HIV-infected individuals. *AIDS* 2010; 24(12):1897-1905.
- (396) Lamb EJ. United Kingdom guidelines for chronic kidney disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008; 241:16-22.
- (397) Worm SW, De Wit S, Weber R, Sabin CA, Reiss P, El Sadr W et al. Diabetes mellitus, preexisting coronary heart disease, and the risk of subsequent coronary heart disease events in patients infected with human immunodeficiency virus: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D Study). *Circulation* 2009; 119(6):805-811.
- (398) Carr A, Emery S, Law M, Puls R, Lundgren JD, Powderly WG; HIV Lipodystrophy Case Definition Study Group. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet* 2003; 361(9359):726-735.

